Aus der Abteilung für Transfusionswesen mit Blutbank
Direktor: Professor Dr. W. Schneider
des Zentralinstituts für Anaesthesiologie
und Transfusionswesen der Universität Tübingen

VORKOMMEN UND PERSISTENZ SEROLOGISCHER PARAMETER DER HEPATITIS B BEI HB_sAG-POSITIVEN UND BEI INFOLGE ERHÖHTER TRANSAMINASENWERTE AUFGEFALLENEN BLUTSPENDERN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät (Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Rudolf Hinger
aus Ludwigsburg
1983

Aus der Abteilung für Transfusionswesen mit Blutbank
Direktor: Professor Dr. W. Schneider
des Zentralinstituts für Anaesthesiologie
und Transfusionswesen der Universität Tübingen

VORKOMMEN UND PERSISTENZ SEROLOGISCHER PARAMETER DER HEPATITIS B BEI HB_sAG-POSITIVEN UND BEI INFOLGE ERHÖHTER TRANSAMINASENWERTE AUFGEFALLENEN BLUTSPENDERN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät (Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Rudolf Hinger
aus Ludwigsburg
1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Professor Dr. W. Schneider
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. B. Flehmig

Meinen Eltern

Inhalt

			Seite
1		Einleitung	1
2		Geschichte	2
3		Hepatitis B	4
	3.1	Hepatitis-B-Virus	7
	3.1.1	Hepatitis-B-Surface-Antigen (HB_sAg)	7
	3.1.1.1	Asymptomatische HB_sAg-Träger	10
	3.1.2	Antikörper gegen HB_sAg (Anti-HB_s)	13
	3.1.3	Hepatitis-B-Core-Antigen (HB_cAg)	14
	3.1.3.1	DNA-Polymerase	16
	3.1.4	Antikörper gegen HB_cAg	17
	3.1.5	e-Antigen und Antikörper gegen e-Antigen (Anti-e)	18
4		Aufgabenstellung	22
5		Untersuchungsmaterial	23
6		Untersuchungsmethoden	23
7		Ergebnisse	33
	7.1	Ergebnisse der Gruppe 1	33
	7.2	Ergebnisse der Gruppe 2	58
8		Zusammenfassung	62

1 Einleitung

Nach einer Infektion mit dem Hepatitis-B-Virus kann der Oberflächenanteil des komplex strukturierten Viruspartikels im Serum ohne sichtbare Krankheitsanzeichen persistieren; man spricht von asymptomatischen HB_sAg-trägern (= Carrier). Sie bilden seit 1970 die Zielgruppe des Blutspenderscreenings zur Verhinderung von Posttransfusionshepatitiden des Typs B. Im Rahmen der Routinediagnostik werden die Spenderseren auf das Hepatitis-B-Surface-Antigen (HB_sAg) überprüft. Hierzu diente in den ersten Jahren die Immunelektrophoresetechnik, seit 1972 (70) steht jedoch ein ungleich empfindlicherer Radioimmunassay zur Verfügung.

Gleichzeitig werden routinemäßig die Transaminasewerte, die vor der Entdeckung des Australia-Antigens den einzigen Hinweis auf ablaufende bzw. abgelaufene Leberer-krankungen geben konnten, überprüft. Spender mit erhöhten Werten müssen vom Spenden ausgeschlossen werden. Ein obligater Causalzusammenhang mit einer Hepatits-B-Infektion wurde allerdings schon vor Entdeckung des HB_sAg bezweifelt (20).

Mittlerweile stehen auch zur Abklärung weiterer Parameter, im wesentlichen der Antigenkomponenten und der gegen sie gerichteten Antikörper, Radioimmunassays zur Verfügung. Es bleibt abzuwarten, inwieweit diese Parameter Eingang in die Routinediagnostik finden werden. Desgleichen ist ihre Bedeutung im Hinblick auf die Epidemiologie und den Krankheitsverlauf noch nicht vollständig geklärt.

Unter diesen Gesichtspunkten wurden von den seit 1971 in der Blutzentrale registrierten asymptomatischen Virusträgern die zur Zeit überprüfbaren Parameter ermittelt. Ebenso wurde eine Reihe von Spendern, die wegen erhöhter Transaminasen aufgefallen waren, im Hinblick auf einen möglichen Zusammenhang mit einer Hepatitis B getestet.

2 Geschichte

Als spezifisches Problem wurde die Hepatitis erst vor ungefähr 40 Jahren erkannt. Obwohl bereits vor 2000 Jahren von Hippokrates ein "infektiöser Ikterus" beschrieben worden (zit. nach 67) und schon 1885 eine Hepatitis-Epidemie nach Pockenschutzimpfung erwähnt worden war (71), stellte die Krankheit in den ersten drei Jahrzehnten dieses Jahrhunderts ein noch weitgehend unverstandenes Problem dar und entsprechend sporadisch war denn auch die Suche nach möglichen Erregern.

Mitte der dreißiger Jahre wurde ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Gelbsucht und der Injektion menschlichen Serums, das anläßlich einer Gelbfieberimpfung dem Impfstoff zur Stabilisierung zugesetzt worden war, registriert (33). Damit bestätigte sich eine Vermutung, die bereits 1885 (71) diskutiert worden war.

Im Jahre 1943 wurden in einer Studie über das Auftreten von Gelbsucht ein bis vier Monate nach Übertragung von Blut oder Plasma zum ersten Mal Fälle von Posttransfusionshepatitis veröffentlicht (8).

Im selben Jahre wurde nach erfolglosen Tierversuchen mit menschlichen Transfusionsversuchen begonnen, die während der nächsten 20 Jahre beibehalten wurden und eine Fülle von die Epidemiologie und Ätiologie betreffenden Erkenntnisse lieferten.

Aufgrund der verschiedenen Epidemiologien bei klinisch gleicher Symptomatik wurde bereits in den vierziger Jahren eine Einteilung in Hepatitis A oder infektiöse bzw. epidemische Hepatitis und Hepatitis B oder Serumhepatitis vorgenommen (72,51,93). Auch die Existenz eines symptomfreien Virusträgers wurde zu dieser Zeit bereits in Betracht gezogen, und es gab auch schon erste Erfolge in der Prophylaxe der Hepatitis A mit γ-Globulinen (104).

In den darauffolgenden Jahren wurde mit Versuchen zur Herstellung von Gewebekulturen begonnen, ebenso ging die Suche nach empfänglichen Tieren weiter, die aber erst 1966 einen ersten Erfolg zeigte, als es gelang, Hepatitis A auf Krallenaffen zu übertragen (22).

Der entscheidende Durchbruch bei der Bekämpfung der Posttransfusionshepatitis, die durch passive Immunisierung nicht zu verhindern war, gelang 1968 (95), als eine Beziehung des 1965 (12) entdeckten Australia-Antigens zur Hepatitis B aufgezeigt werden konnte. Damit war es erstmals möglich, gezielt Virusträger zu erkennen und vom Blutspenden auszuschließen. Frühere Kriterien, hauptsächlich erhöhte Transaminasenwerte, hatten sich immer wieder als zu unspezifisch erwiesen. Im Jahre 1970 (21) folgte der Entdeckung des Australia-Antigens die des sogenannten Dane-Partikels und 1972 (73) die Beschreibung eines weiteren im Rahmen der Hepatitis B auftretenden Antigens, des e-Antigens.

Nach dem Nachweis der verschiedenen Virus-Komponenten und der zugehörigen Antikörper war es auch möglich, Schimpansen zu infizieren, die bisher als resistent gegolten hatten; es stellte sich heraus, daß die Tiere in den meisten Fällen bereits bei ihrer "Einreise" von Pflegern oder sonstigen Personen, die engen Kontakt zu den Tieren hatten, infiziert worden waren und sich nach Antikörperbildung in nachfolgenden Versuchen als resistent erwiesen (24).

Nach der Entdeckung des Hepatitis-A-Virus im Jahre 1973 (31) war es möglich, die in HB_sAg-positive und HB_sAg-negative Erkrankungen eingeteilten Hepatitiden weiter zu differenziern. Es stellte sich zumindest eine weitere Form heraus, die als Non-A-Non-B-Hepatitis bezeichnet wird. Die Bezeichnung Hepatitis C wurde fallengelassen, da diese Form der Hepatitis sehr wahrscheinlich durch mindestens 2 Erreger verursacht wird (83).

Über diese dritte Form bzw. mögliche weitere Formen der Hepatitis ist noch sehr wenig bekannt, was umso schwerer wiegt, als bei Studien in den USA bis zu 90% der Posttransfusionshepatitiden Non-A-Non-B-Fälle waren (36,4,24).

3 Hepatitis B

Die Hepatitis B ist im Hinblick auf Ätiologie, Pathogenese und klinische Charakteristik eine außergewöhnliche Krankheit. Das Spektrum reicht von der fulminant verlaufenden Form mit einer relativ geringen Überlebenschance von 25% über sowohl ikterischen wie anikterischen Verlauf mit Antikörperbildung, über Serokonversionsreaktionen mit Antikörperbildung ohne Krankheitsphase, über die Entwicklung chronischer Leberschädigung oder Ausbildung eines symptomfreien Virusträgertums bis zum völligen Fehlen einer erkennbaren Reaktion auf das Virus (2,109).

Die asymptomatischen Formen, vor allem die klinisch gesunden "Carrier" (= Träger des Australia-Antigens) sind im Hinblick auf die Epidemiologie von Bedeutung, insbesondere, seit mannigfache Übertragungsmöglichkeiten (36,82) erwiesen sind, die zum großen Teil auf der Übertragung kleiner und kleinster Blutmengen, z. B. durch Hautschürfungen, möglicherweise auch Insekten-Stichen, beruhen. Damit scheint sich die Hepatitis B selbst aus ihrem grossen Reservoir an potentiell infektiösen Personen (900 000 Carrier in den USA, 120 Mio in der Welt (109) erhalten zu können und nicht auf Infektionen durch akut Erkrankte zu beschränken. Dies wird auch bestätigt durch die Tatsache, daß nur 10% der Erkrankungsfälle durch Transfusionen oder anderweitige klinische Übertragungen, z. B. Impfungen, hervorgerufen werden. Die Hepatitis B ist demnach kein Produkt der modernen Medizin; sie kommt auch in entlegenen, kulturell kaum erschlossenen Gebieten vor (13,84).

Obwohl ihre Bedeutung im Spektrum der Posttransfusionshepatitis nach Einführung radioimmunologischer Unter-

suchungsmethoden zur Eliminierung von Trägern des Australia-Antigens stark zurückgegangen ist (32,106, 66,4,48,102), und obwohl Versuche zur passiven wie zur aktiven Immunisierung Erfolge zeigen (69), bleibt die Hepatitis B ein Problem der Transfusionsmedizin. Zwar verläuft sie in der Regel ohne weitere Folgen, doch beträgt die Letalitätsrate immerhin 1%. In ungefähr 10% der Fälle entwickelt sich ein chronischer Verlauf (24,80,96). Dabei treten zwei immunologisch verschiedene, histologisch zu unterscheidende Formen auf, die beide sowohl mit positivem als auch negativem Antigennachweis im Serum einhergehen können. Einmal die chronisch persistierende Hepatitis, CPH, zum anderen die chronisch aktive oder aggresive Hepatitis , CAH, die in der Mehrheit der Fälle zur Zirrhose führt.

Ein chronischer Verlauf ist nach anikterischen und subklinischen Infektionen, die 4/5 aller Fälle ausmachen, sehr viel häufiger als nach klinisch manifesten und daher als schwerer anzusehenden Erkrankungen (102,96,80). In 4 - 5% der Fälle (36,109) entwickelt sich ein asymptomatischer Carrier, d. h., das Australia-Antigen persistiert ohne weitere klinische oder histologische Folgen für den Träger.

Bei plötzlichem Versagen der Leber in der akuten Phase spricht man von fulminanter Hepatitis, der seltensten aber schwerwiegendsten Form. Die Überlebenschance hängt stark vom Alter ab und beträgt nur etwa 20 - 25%, die sich vorwiegend aus jungen Patienten zusammensetzen.

Als Erklärung der verschiedenen Formen im Erscheinungsbild der Hepatitis B wurde u.a. auch eine genetische Disposition diskutiert. Bereits 1966 wurden zum ersten Mal Anzeichen für einen autosomal-recessiven Erbgang genannt. Eindeutig geklärt werden konnte dieser Befund allerdings nicht; entsprechende Nachforschungen ergaben widersprüchliche Ergebnisse. - Eine Bejahung dieser Frage

wäre jedenfalls eine plausible Erklärung für die Häufung in bestimmten Familien und Volksgruppen, die unabhängig von den äußeren Gegebenheiten erhalten bleibt. So wurde bei Südländern, die bereits in zweiter Generation in den USA leben, also unabhängig von den Umweltbedingungen ihrer Heimat aufwuchsen, trotzdem eine erhöhte Durchseuchung mit Hepatitis-Viren festgestellt (13, 109). Gleiches gilt für die Carrierhäufigkeit.
Ebenfalls erklärt würde die Tatsache, daß Personen männlichen Geschlechts, vor allem Farbige, signifikant häufiger zu Carriern werden als vergleichbare Gruppen von Frauen und Weißen (80,109); plausibler erscheint es in diesem Zusammenhang allerdings, die sozialen Gegebenheiten als Grund für eine solche Verteilung heranzuziehen.

Die Inkubationszeit, die 60 - 160 Tage beträgt, läßt sich in eine Frühphase mit fehlendem und eine Spätphase mit nachweisbarem HB_sAg im Serum einteilen. Mit Ausbruch der Krankheit befindet sich der Organismus im Stadium der Antigeneliminierung, erst die Immunreaktion führt zur Zerstörung der Leberzelle (9,84,10) und damit zum Anstieg der Transaminasen im Serum. Die akute Phase dauert 2 - 12 Wochen und läßt ebenfalls eine Einteilung in Frühphase, in der das Antigen in Immunkomplexen noch vorhanden ist und in eine Spätphase ohne Antigennachweis zu.

Nach der Infektion ist in der Regel eine, zumindest zeitlich begrenzte, Immunität gegeben; gelingt die Antigeneliminierung nicht vollständig, so entwickelt sich entweder eine Toleranz gegenüber dem Antigen oder eine chronisch entzündliche Reaktion. Das Antigen selbst ist nicht cytotoxisch, jedoch wird eine onkogene Rolle diskutiert (117).

Die Hepatitis-B-Durchseuchung zeigt eine typische sozial, ökonomisch und regional spezifische Struktur; bereits vor der Entdeckung des Antigens war diese Tatsache aufgrund der weitaus höheren Infektiosität des sogenannten "commercial-blood" (Blut bezahlter Spender aus meist

sozial schwachen Schichten) in den USA festgestellt worden. Ähnliche Unterschiede konnten beim Vergleich ethnisch verschiedener Populationen nachgewiesen werden. Angesichts der regionalen Unterschiede kann ein Zusammenhang zwischen Klima und Hepatitis-B-Durchseuchung festgestellt werden, woraus ein deutliches Nord-Südgefälle resultiert (109).

Außer diesen Unterschieden ist ein deutlicher altersabhängiger Anstieg der Anti-HB_s-Frequenz zu erkennen (34), was bei gleichbleibendem Infektionsrisiko auf die zunehmende Zeitspanne der potentiellen Exposition zurückzuführen ist.

Das Infektionsrisiko steigt aber mit der Intensität der potentiellen Exposition, was im erhöhten Risiko bestimmter Berufsgruppen, namentlich medizinischem Personal, zum Ausdruck kommt (64,94,99,100).

3.1 Das Hepatitis-B-Virus

Das HBV ist ein aus mehreren Komponenten zusammengesetztes Teilchen. Ein Dane-Partikel, ein 1970 elektronenmikroskopisch im Serum akut an Hepatitis B erkrankter Patienten entdecktes 42 nm großes Teilchen, das heute allgemein als das komplette HB-Virus angesehen wird, besteht aus drei immunologisch verschiedenen Teilen: einmal dem inneren oder "Core"-Anteil (Hepatitis-B-Core-Antigen = HB_cAg), zum anderen dem Mantelteil (Hepatitis-B-Surface-Antigen = HB_sAg), der dem Australia-Antigen entspricht und zum dritten dem e-Antigen, dessen Lokalisation nicht vollständig geklärt ist.

3.1.1 HB_sAg

Das Hepatitis-B-Surface-Antigen wurde 1965 im Serum eines australischen Ureinwohners gefunden (12), weshalb es zunächst Australia-Antigen genannt wurde, eine Bezeichnung, die sich z. T. bis heute gehalten hat. Im Jahre 1968 wur-

de in voneinander unabhängigen Untersuchungen erstmals ein Zusammenhang zur Hepatitis B erkannt (47,95). Diese Entdeckung gab den Anstoß für eine Fülle nachfolgender Untersuchungen, in deren Verlauf die Bedeutung des Australia-Antigens für die Epidemiologie und vor allem die Diagnostik der Hepatitis B weiter zunehmen sollte. Dabei änderte sich die Nomenklatur von Australia-Antigen (AU-Ag) über Serumhepatitis-Antigen (SH-Ag) in Hepatitis assoziiertes Antigen (HAA), bis man sich schließlich auf den heutigen, der Natur des Antigens am ehesten entsprechenden Namen, einigte.

Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen liegt das HB_sAg in zwei verschiedenen Formen im Serum vor; 20 - 22nm große sphärische Partikel wechseln mit tubulären Formen unterschiedlicher Länge, aber mit konstantem Durchmesser von ebenfalls 20 - 22 nm. Die sphärischen Partikel kommen auch im Cytoplasma befallener Hepatocyten vor. - Beide Formen scheinen sich hinsichtlich ihrer Eigenschaften nicht zu unterscheiden. Sie werden als nicht infektiöses, im Überschuß produziertes oder abgesprengtes Hüllmaterial des Dane-Partikels betrachtet. Sie kommen auch in allen anderen Körperflüssigkeiten vor (15,42,56), wenn auch in weit geringeren Mengen.

Das HB_sAg ist keine, wie ursprünglich angenommen, immunologisch monospezifisch reagierende Substanz. Man unterscheidet vielmehr neben untergeordneten Antigen-Komponenten mehrere, in ihrer Bedeutung herausragende, Antigendeterminanten. Allen gemeinsam ist die Komponente a, hinzu kommen die sich gegenseitig ausschließenden d und y bzw. w und r. In den USA und Europa wird der Subtyp mit der Determinante r praktisch nicht gefunden, weshalb es im allgemeinen genügt, die Typen adw und ayw, kurz D und Y bezeichnet, zu unterscheiden; der Subtyp D überwiegt dabei bei weitem (78). Biochemisch zeigt das HB_sAg eine komplexe Struktur aus 7 - 9 Polypeptiden; die isolierten Polypeptide reagieren subtypspezifisch, was die Vorstel-

lung bestärkt, daß sie an viralen Genen der im "core" des Dane-Partikels befindlichen DNA codiert werden (25,42).

Während einer Hepatitis-B-Infektion läßt sich das HB_sAg zum ersten Mal in der Mitte der Inkubationszeit, d.h. ein bis zwei Monate nach der Inokulation bzw. ein bis zwei Monate vor Ausbruch der Krankheit, im Serum nachweisen; zu Beginn der akuten Phase ist der Titer maximal oder bereits wieder abgesunken. In der Regel persistiert es während der ersten Krankheitswochen. Im Cytoplasma der Hepatocyten, wo das Antigen im Gegensatz zum HB_cAg, dessen Synthese im Kern stattfindet, multipliziert wird, wird es jedoch erst kurz vor dem Transaminasenanstieg gefunden; allerdings persistiert es in den Leberzellen länger.

Bleibt das Antigen im Serum länger als drei bis sechs Monate nachweisbar, so liegt entweder eine chronische Form vor, wobei sich die CPH meist durch einen höheren HB_sAg-Gehalt als die CAH auszeichnet (96), oder es entwickelt sich ein Carrier mit asymptomatischer Viruspersistenz.

Für die Diagnostik hat sich das HB_sAg auch nach Kenntnis anderer Antigenkomponenten und Antikörper, die ebenfalls zur Charakterisierung herangezogen werden, als zuverlässiger und nach Entwicklung präziser und empfindlicher Bestimmungsmethoden auch als ein in der Routine relativ leicht bestimmbarer Marker bewährt.

Eine weitere, sehr wichtige Bedeutung hat es in der Immunprophylaxe gewonnen: der mit dem infektiösen Teil des Virus, dem HB_cAg, korrespondierende Antikörper Anti-HB_c scheint, wie bei anderen Infektionen mit mehrteiligem Virus bekannt (2), keine virusneutralisierende Aktivität zu besitzen. Im Gegensatz dazu erfüllt jedoch das Anti-HB_s

die Aufgaben eines neutralisierenden Antikörpers, da es mit der schützenden Hülle des Virus reagiert. Eine Inokulation von nicht infektiösem HB_sAg, das keine DNA zur Virusmultiplikation enthält, oder eine Polypeptidkomponente des HB_sAg müßte also in der Lage sein, die Bildung des schützenden Antikörpers ohne Erkrankungsgefahr zu provozieren.

Diese Möglichkeit einer aktiven Immunisierung wurde bereits mit Erfolg angewandt, eine generelle Anwendung wird in naher Zukunft möglich sein.

3.1.1.1 Asymptomatische HB_sAg - Carrier

Im Zusammenhang mit dem HB_sAg ist diese Gruppe gesondert zu betrachten. Die Existenz von asymptomatischen Virusträgern wurde bereits in den fünfziger Jahren postuliert (52), konnte jedoch erst nach Beschreibung des Australia-Antigens bewiesen und näher untersucht werden. Es handelt sich um eine sehr heterogene Gruppe, die sich zum kleineren Teil aus klinisch stummen CAH- und CPH-Patienten mit teilweise massiven leberhistologischen Veränderungen und nachweisbaren Partikeln, HB_sAg oder HB_cAg, in den Leberzellen zusammensetzt, zum größeren Teil jedoch aus klinisch und histologisch gesunden HB_sAg-Trägern besteht (6).'

Eine Antigenpersistenz ist um so wahrscheinlicher, je weniger die Krankheit ausgeprägt ist (80,96), d.h. in der Mehrheit der Fälle nach subklinischem und anikterischem Verlauf. Sie dauert einigen Angaben zufolge (69,82) 19 - 20 Jahre, nach anderen lebenslang (15,36). Erstere stützen sich dabei auf die Beobachtung, daß zum einen der HB_sAg-Gehalt bei verschiedenen Carriern stark variiert und somit möglicherweise einen Titeranstieg bzw. -abfall anzeigt, zum anderen die Zahl der Carrier mit zunehmendem Alter stark abfällt; eine Beobachtung, die allerdings auch in dem Sinne interpretiert werden könnte, daß die HB_sAg-Träger eine niedrigere Lebenserwartung haben.

Außer dem HB_sAg tritt bei allen Carriern das Anti-HB_c, Antikörper gegen den "Core"-Anteil, hochtitrig auf; Anti-e, Antikörper gegen das HB_eAg, ist häufig vorhanden und bei einem Teil mit histologischen Befunden ist das eAg nachzuweisen, dem in Bezug auf die Infektiosität der Carrier eine besondere Bedeutung zuzukommen scheint (75,91,92). Es wird nämlich nicht mehr bestritten, daß nur ein Teil der Carrier infektiös ist. Als ein möglicher Marker für den Grad der Infektiosität könnte der Zustand der Leber angesehen werden. Die Meinungen gehen in diesem Punkt jedoch auseinander (5,13,36,75,109). Als ein weiterer möglicher Marker kommt die DNA-Polymerase-Aktivität in Frage, die direkt mit der Zahl der Dane-Partikel im Serum korreliert ist.

Was das e-Ag anbetrifft, so zeigen sich auffallende Übereinstimmungen sowohl mit den histologischen und laborchemischen Leberbefunden als auch mit der Aktivität der DNA-Polymerase.

In Anbetracht der Vielfalt der Übertragungsmechanismen ist das Problem der Infektiosität von besonderer Bedeutung. Hauptübertragungsfaktor ist das Blut, bereits 10^{-7}ml Serum genügen zur Infizierung (36). So ist z. B. eine Kontamination durch Benützen derselben Zahnbürste oder desselben Rasierapparates etc. nicht unwahrscheinlich. Auch in weniger intimen Bereichen des täglichen Lebens sind kleinste "Blut-Transfusionen" von Bedeutung, beispielsweise hervorgerufen durch Hautschürfungen, Insektenstiche oder ähnliches; dabei können kleinste, unmerkliche Wunden entscheidend sein. Diskutiert werden auch andere Übertragungswege, da sich das HB_sAg in allen Körperflüssigkeiten findet (15,36,82,109). Wenig wahrscheinlich scheint eine orale Übertragung, da hierzu die 10fache Menge im Speichel erforderlich wäre (36). Von wesentlich größerer Bedeutung ist die Kontamination durch Sexualverkehr; HB_sAg konnte sowohl im Samen als auch im Menstruationsblut und Vaginalsekret nachgewiesen werden;

hierfür spricht die hohe Erkrankungsrate bei Ehepartnern von Carriern. Allerdings wäre dies infolge der Enge der Beziehung evtl. auch durch Blutkontamination erklärbar. Auch die hohe Durchseuchungsrate bei Personen hoher Promiskuität (36) (Prostituierte, Patienten mit Geschlechtskrankheiten, Homosexuelle) ließe sich durch beide Übertragungswege erklären.

Die geographische und ethnische Verteilung der asymptomatischen Virusträger entspricht weitgehend der der Hepatitis-B-Durchseuchung. Sie variiert dementsprechend stark in sozial und ökonomisch unterschiedlich strukturierten Gebieten; so finden sich in Europa 0,1 - 2% Carrier, wobei ein deutliches Nord-Süd-Gefälle feststellbar ist. Der gleiche Effekt ist auch in den USA zwischen dem Norden und Puerto Rico erkennbar (109).

In manchen Gegenden Asiens und Afrikas beträgt die Carrier-Rate bis zu 10%. Bei Völkern mit rituellen Bräuchen wie Tätowieren, Vernarben und Beschneiden, die kleine Blutübertragungen wahrscheinlich machen, sollen sogar bis zu 20% HB_sAg-Träger sein (13). Die altersmäßige Spitze liegt in Gebieten mit gemäßigtem Klima und niedriger Carrier-Rate bei den 30 - 40jährigen, während in Zonen mit hohem Carrier-Anteil Kinder einen besonders hohen Prozentsatz ausmachen (36,82).

Dies ist möglicherweise auf eine vorwiegend vertikale, d. h. perinatale und transplacentare Übertragung in diesen Ländern zurückzuführen, die in Europa und USA keine Rolle zu spielen scheint (109).

Kinder erkranken bei einer Infektion meist nicht klinisch; das bedeutet, daß ein chronischer Verlauf wahrscheinlicher ist als bei Erwachsenen. Dies könnte die hohe Rate an asymptomatischen HB_sAg-Trägern unter Kindern in den betreffenden Regionen erklären. Aus demselben Grund ist

wahrscheinlich in sogenannten Carrier-Haushalten, deren Mitglieder bekanntermaßen ein hohes Risiko tragen, der Anteil der Kinder, die sich zum asymptomatischen Carrier entwickeln, sehr viel höher als der der manifest erkrankten mit nachfolgender Antikörperbildung (13,36,109).

Eine besondere Rolle spielen die asymptomatischen Carrier im Klinikbereich (64,94,99,100). Zwar scheint eine erhöhte Gefährdung durch HB_sAg-positive Ärzte keine große Rolle zu spielen (3,15), aber umgekehrt ist die Übertragung einer Hepatitis durch asymptomatische Patienten auf medizinisches Personal keineswegs selten; hier ist die Hepatitis-B-Durchseuchung 3 - 4mal höher als bei vergleichbaren Bevölkerungsgruppen (34,100). Besonders gefährdet ist das Personal auf Dialysestationen. Allerdings entwickeln solcherart infizierte Personen meistens eine akute Hepatitis mit nachfolgender Antikörperbildung (3, 109), selten werden sie selbst zu Carriern (117). Auf jeden Fall ist im Umgang mit asymptomatischen Carriern im Klinikbereich Vorsicht geboten . Bedenken sollte man auch, daß Carrier ihrerseits an anderen Formen der Hepatitis (A oder Non-A-Non-B) erkranken können.

3.1.2 Anti-HB_s

Der zum HB_sAg korrespondierende Antikörper neutralisiert nur das HB_sAg. Er hat dabei keine cytotoxische Funktion. Wahrscheinlich ist er ein Marker für die Eliminierung des Virus.

Als Marker für abgelaufene Infektionen ist die Anti-HB_s-Frequenz (neben der Anti-HB_c-Frequenz) ein Maß für die Hepatitis-B-Durchseuchung und korreliert dementsprechend mit der sozialen und ökonomischen Struktur (69), bzw. mehreren bereits erwähnten Faktoren, u.a. ist sie altersabhängig. Im RIA sind ungefähr 5 - 7% aller freiwilligen Spender Anti-HB_s-positiv (35).

Der Antikörper kommt sehr selten auch bei HB_sAg-Carriern vor; in den bisher beschriebenen Fällen (41,88) mit dieser Konstellation ist das Anti-HB_s jedoch gegen eine subtypenspezifische Ag-Determinante (d,y) des HB_sAg gerichtet, die nicht dem des im Serum vorhandenen HB_sAg entspricht. Die Subtypen bestehen aus jeweils zwei Komponenten (a und d bzw. a und y), wobei die Komponente a beiden Subtypen gemeinsam ist. Die Komponente des Anti-HB_s, die gegen die gruppenspezifische Ag-Determinante a gerichtet ist, kommt in den genannten Fällen nicht vor.

Im allgemeinen tritt das Anti-HB_s ein bis mehrere Monate nach Verschwinden des HB_sAg auf, in einigen Fällen kann es jedoch ein bis zwei Jahre dauern (109). Hohe und niedrige Titer sind gleichermaßen feststellbar, in manchen Fällen ist auch gar kein Anti-HB_s nachweisbar (2). Es persistiert mindestens 3 - 5 Jahre, sehr wahrscheinlich wesentlich länger, evtl. lebenslang. Möglicherweise kann das Anti-HB_s das HB_sAg durch Bildung von Immunkomplexen "maskieren". Dennoch beinhaltet die Transfusion von Anti-HB_s-haltigem Blut sehr wahrscheinlich kein Risiko (58,102). Gewisse Vorbehalte konnten allerdings nicht endgültig abgeklärt werden (117).

Speziell präpariertes Anti-HB_s-haltiges Serum wird in indizierten Fällen als Hyperimmunglobulin zur passiven Prophylaxe angewendet (18,65,77,49). Auf die Rolle des Anti-HB_s bei der aktiven Immunisierung wurde bereits hingewiesen.

3.1.3 HB_cAg

Das Hepatitis-B-Core-Antigen - der innere oder Kernteil des HB-Virus - hat, die Quellen sind hierüber nicht einheitlich, eine Größe von 21 - 25 nm (62) bzw. 27 - 28 nm (42,57,97). Seine Synthese geht der des HB_sAg im Verlauf einer Infektion voraus. Im isolierten Zustand, d.h. ohne schützendes Hüllenantigen, tritt es fast ausschließlich

in Leberzellkernen auf, wo auch seine Synthese stattfindet; in wesentlich geringerem Maße liegt es auch im peripheren Cytoplasma bzw. in cytoplasmatischen Fortsätzen vor, die möglicherweise Folge einer durch das Antigen verursachten Membranschädigung sind. Dabei kommt es in der Leberzelle zu einer Proliferation des glatten ER, an dem sich tubuläre Formen des HB_sAg finden, an denen wiederum das cytoplasmatische HB_cAg lokalisiert ist.

Die Zahl der Partikel kann von Zelle zu Zelle außerordentlich variieren. Weiterhin sind Dane-ähnliche Partikel zu beobachten, die evtl. Komplexen aus intracellulärem autologem Anti-HB_c entsprechen.

Über die Proliferation des glatten ER hinaus treten keine zellulären Veränderungen auf, das HB_cAg ist nicht cytopathogen. Eindeutig belegt dies auch die Existenz einer Sonderform der Hepatitis B, der sogenannte HB_cAg-Prädominanz-Typ bei immunsuppressiv behandelten Patienten, bei dem das HB_cAg in den Kernen fast aller Hepatocyten vorliegt, ohne eine immunologische Reaktion zu provozieren oder die Zelle zu verändern. Die Infektiosität ist in diesem Fall allerdings außerordentlich hoch (11).

Im Serum liegt das HB_cAg ausschließlich innerhalb des Dane-Partikels vor; dieser erscheint in der Inkubationszeit nach dem HB_sAg im Serum, jedoch vor dem Enzymanstieg, der die akute Phase einleitet.

Obwohl das HB_cAg eine DNA enthält, wird es nach wie vor den unklassifizierten Viren zugeordnet; bei der DNA, die im isolierten HB_cAg linear, im Dane-Partikel circulär angeordnet ist, handelt es sich um die kleinste bekannte Virus-DNA. Ihre Information würde bei einmaliger Codierung nicht einmal für das HB_sAg ausreichen. Allerdings ist zu bedenken, daß Viren mehrmaligen Gebrauch von limitiertem Gen-Material machen können. Vielleicht handelt es sich bei dieser kleinen DNA auch nur um ein Bruchstück

einer bisher unentdeckten kompletten Virus-DNA. Während der cytoplasmatischen Reifung des HB_cAg wird die ursprünglich lineare DNA circulär. Im Core des kompletten Virus liegt auch eine DNA-Polymerase vor, die im isolierten HB_cAg nicht nachgewiesen werden kann.

Bei chronischen Formen persistiert das HB_cAg in einigen Fällen in den Leberzellkernen. Dabei können Dane-Partikel im Serum vorhanden und eine DNA-Polymeraseaktivität nachweisbar sein, was vor allem im Hinblick auf die Infektiosität dieser Patienten von Bedeutung ist. Bei histologisch gesunden Carriern wurde noch nie eine DNA-Polymerase-Aktivität nachgewiesen, Dane-Partikel kommen in seltenen Fällen in inkompletter Form (5,6) im Serum vor, HB_cAg ist nie vorhanden. Dies könnte Folge des hohen Anti-HB_c-Gehaltes der chronischen HB_sAg-Träger sein: man stellt sich vor, daß das HB_cAg vollständig in Immunkomplexen gebunden ist, die vom RES eliminiert werden.

Die Struktur des HB_cAg ist nicht homogen; einige Partikel haben elektronendichte Zentren, die meisten sind jedoch elektronenmikroskopisch hohle sphärische Teilchen; ihre Widerstandskraft gegen chemische und encymatische Einwirkungen ist erstaunlich.

3.1.3.1 DNA-Polymerase

Bei der akuten Virus-Hepatitis mit unkompliziertem Verlauf ist die DNA-Polymerase, deren Aktivität im Serum unmittelbar mit der Zahl zirkulierender Dane-Partikel korreliert und damit die Virusreplikation anzeigt (5,112), zum ersten Mal in der Inkubationszeit zusammen mit dem Auftreten des HB_sAg im Serum feststellbar, d. h. ungefähr am 30. Tag nach Inkubation. Bei Ausbruch der Krankheit, am ersten Tag der Transaminasenerhöhung, ist eine Aktivität sehr häufig nicht mehr nachweisbar, d.h. der Patient ist zu diesem Zeitpunkt wahrscheinlich gar nicht mehr infektiös, zumindest scheint die Produktion von Viruspartikeln been-

det (41,42). Dagegen bleibt die DNA-Polymerase in einigen Fällen mit chronischem Verlauf, jedoch nicht bei gesunden Carriern, längere Zeit nachweisbar. Eine Aktivität ist dabei fast immer mit dem Auftreten des eAg, jedoch nicht unmittelbar mit einer Leberschädigung verbunden.

Regelmäßig nach einer akuten Infektion erscheinen Inhibitoren der DNA-Polymerase, möglicherweise Antikörper (16). Dies könnte die Vermutung stützen, daß es sich bei der DNA-Polymerase um eine virusspezifische Antigenkomponente handelt.

3.1.4 Anti-HB_c

Der zum HB_cAg korrespondierende Antikörper ist im Verlaufe einer Hepatitis-B-Infektion regelmäßig etwa zwei Wochen nach erstmaliger Nachweisbarkeit des HB_sAg und der DNA-Polymerase, d. h. vor dem Beginn der klinischen Erkrankung und in jedem Fall vor dem Auftreten des Anti-HB_s feststellbar (60,91). Dabei besteht eine klare zeitliche Verbindung zwischen den Parametern HB_sAg, DNA-Polymerase und Anti-HB_c, wobei das Anti-HB_c die Aktivität der DNA-Polymerase im Dane-Partikel nicht behindert.

Der Titerverlauf und die Dauer der Anti-HB_c-Persistenz hängen von mehreren Faktoren ab und bedürfen im einzelnen noch der Aufklärung. Während früher mit noch wenig empfindlichen Meßmethoden davon ausgegangen wurde, daß das Anti-HB_c nach unkompliziertem Verlauf mit limitierter Krankheitsphase mit Beginn der Erholungsphase, bzw. dem Verschwinden des HB_sAg, im Serum abfalle und in diesen Fällen weniger lange als das Anti-HB_s (56,60) persistiere, sprechen neuere Befunde (38,45) gegen diese Annahme. Nach diesen Erkenntnissen, die mit ungleich empfindlicheren Radioimmunmethoden gewonnen wurden, persistiert das Anti-HB_c länger als Anti-HB_s und Anti-e, wobei der Titer nur

langsam abfällt(45). Es stellt damit den derzeit besten Marker für die Hepatitis-B-Durchseuchung dar (38). Entgegen früheren Annahmen ist es mit einem Anteil von 8% unter HB_sAg-negativen freiwilligen Blutspendern (38) auch als der häufigste Marker für eine Hepatitis-B-Infektion zu betrachten.
Zunehmende Bedeutung gewann das Anti-HB_c auch für die Diagnose einer frischen Hepatitis-B-Infektion, da es bei jeder Hepatitis-B-Infektion nachweisbar ist (38,45, 60). Es stellt einen sehr sensiblen Marker für die Virusreplikation dar (14,27,118) und ist damit auch geeignet, HB_sAg-negative Hepatitis-B-Fälle (3% aller Infektionen bei Frösner (38), 7,1% bei Gerlich (45), 25% bei Hoofnagle (60)) anzuzeigen, wobei der Titer jedoch niedriger als bei HB_sAg-positiven Fällen liegt (56,60). Da das Anti-HB_c jedoch in der Regel in hohen Titern sehr lange persistiert, rechtfertigt ein hochtitrig nachweisbares Anti-HB_c nicht die Annahme einer frischen Infektion, sodaß das HB_sAg der bedeutendste Marker zur Diagnose einer frischen Infektion bleibt.
Bessere diagnostische Möglichkeiten ergeben sich wahrscheinlich aus der neuerdings möglichen getrennten Darstellung der IgG- und IgM-Anteile des Anti-HB_c (17,45,89).

Eine weitere Bedeutung hat das Anti-HB_c bei der aktiven Immunisierung: bei der Immunreaktion auf das isolierte HB_sAg ist es nicht, bei der subklinischen Infektion hingegen immer nachweisbar. Damit ist eine Unterscheidung dieser beiden Reaktionsformen möglich.

3.1.5 HB_eAg und Anti-e-Antikörper

Das eAg, das 1972 erstmals als eine immunologisch heterogen reagierende Gruppe von Antigenen, ausschließlich im Serum HB_sAg-positiver Patienten und Blutspender vorkommend, beschrieben wurde (73), ist bis heute trotz unzähliger Veröffentlichungen ein Gegenstand der Diskussion geblieben, sowohl was seine Natur als auch was seine

Bedeutung anbetrifft. Unbestritten ist nur seine Beziehung zur Hepatitis-B-Infektion. Es ist unklar, ob es sich überhaupt um einen Teil des Hepatitis-Virus handelt oder ob es nicht vielmehr Ausdruck einer wirtsspezifischen Reaktion ist (63,74,88,115). Umstritten war lange Zeit auch seine Lokalisation; einige Autoren (88,115) vermuteten das e-Ag an der Oberfläche des Dane-Partikels und stützten sich dabei auf die Beobachtung, daß das Anti-e mit Dane-Partikeln Aggregate bilde; andere bestritten gerade diese Präcipitierbarkeit des Dane-Partikels durch Anti-e (111). Heute ist man sich weitgehend einig, daß das eAg in enger Nachbarschaft zum "Core"-Anteil liegt. In den Hepatocyten soll es sowohl an der Zellmembran als auch intranukleär vorliegen (54,115).

Die Unsicherheit in der Interpretation der Ergebnisse ist zum Teil auch auf die Insuffizienz der bis vor kurzer Zeit einzigen Nachweismethode, der Immundiffusionstechnik, zurückzuführen. Dadurch wurde ein großer Teil wahrscheinlich e-Ag-positiver Seren für negativ befunden. Auf diese Tatsache wurde bereits vor mehreren Jahren hingewiesen (30,56). Neuentwickelte RIA-Methoden liefern jetzt bessere Ergebnisse. In neueren Untersuchungen werden denn auch signifikant höhere Zahlen e-Ag-positiver akuter Hepatitiden gefunden als bisher angenommen (37,85).

Weitgehende Übereinstimmung besteht in der Beurteilung der zeitlichen Zusammenhänge des Auftretens des e-Ag im Verlauf einer Infektion; danach ist das e-Ag bereits in der Frühphase, d.h. mit oder kurz nach Beginn der HB_s-Antigenämie im Serum nachweisbar, in einem dokumentierten Fall (28) soll es jedoch erst beim Übergang ins chronische Stadium positiv geworden sein. Bei unkompliziertem Verlauf soll das e-Ag spätestens am 12. Tag nach Krankheitsbeginn wieder negativ werden (76).

Das Anti-e wird in der Regel noch vor Ende der HB_s-Antigenämie, 4 - 6 Wochen nach Krankheitsbeginn, aber nicht

vor dem 15. Krankheitstag, im Serum nachweisbar (26,46). Über die Dauer seiner Persistenz sind noch keine definitiven Aussagen möglich.

Als eine Besonderheit des e-Ag wurde früher angenommen, daß es im Gegensatz zu den beiden anderen Hepatitis-B-assoziierten Antigenkomponenten nicht bei jeder Infektion nachzuweisen sei, jedenfalls nicht in der früher üblichen Immundiffusionstechnik. Demnach hätten zwei unterschiedliche Krankheitsabläufe möglich sein müssen. - Neuere Befunde sprechen jedoch gegen eine Einteilung in e-Ag-positive und e-Ag-negative HBV-Infektionen. Vielmehr scheint es wahrscheinlich, daß während jeder Infektion das e-Ag vorübergehend positiv ist, dies aber infolge der relativen Unempfindlichkeit der früheren Methode nicht erkannt werden konnte (37,85).

Vor allem zwei Fragestellungen, zum einen die prognostische Bedeutung des e-Ag, zum anderen die möglicherweise höhere Infektiosität e-Ag-positiver chronischer Carrier, werden seit einiger Zeit diskutiert. Dabei ergeben sich Unterschiede zwischen e-Ag-positiven und -negativen Carriern hinsichtlich mehrerer histologischer und serologischer Parameter. - Es zeigte sich eine Korrelation zwischen DNA-Polymerase, Dane-Partikeln im Serum und dem e-Ag (54,55,85). In den Leberzellen e-Ag-positiver Personen findet sich HB_cAg (54,63), in wenigen Fällen auch HB_sAg. In Anti-e-haltigen Seren hingegen finden sich keine Dane-Partikel, mit Ausnahme einiger inkompletter Teilchen, die keine Virusreplikation anzeigen (91). Während im akuten Stadium die Transaminasenwerte bei Seren, die in der relativ unempfindlichen Immundiffusionstechnik e-Ag-positiv waren (die also im RIA vermutlich hohe Werte erreichen würden), deutlich niedriger liegen und die Krankheit milder verläuft, ist es im chronischen Stadium umgekehrt (90,114). Die HB_sAg- und Anti-HB_c-Titer sind ebenfalls bei e-Ag-positivem chronischem Verlauf höher als bei e-Ag-negativen Personen (87,98). Asymptomatische

HB_sAg-Carrier mit e-Ag im Serum sind meistens histologisch auffällig, im Gegensatz zu Anti-e-Trägern. Dies bedeutet jedoch noch nicht, daß alle Carrier mit Anti-e auch histologisch unauffällig sind (30,26). Am häufigsten kommt das e-Ag bei Patienten mit CAH vor, bei CPH ist es nicht selten, in keinem Fall wurde es (in der Immundiffusion) bei gesunden asymptomatischen Carriern gefunden (16,113).

Vor allem das Vorkommen der Dane-Partikel in e-Ag-positiven Seren ließ eine höhere Infektionsgefahr durch diese Seren wahrscheinlich erscheinen. Dies wird durch folgende Befunde bestätigt. Mütter mit HB_sAg im Serum übertragen eine Hepatitis auf ihre Kinder nur, wenn gleichzeitig das e-Ag nachgewiesen werden kann (54,101). HB_sAg-haltiges Blut verursachte bei versehentlicher Inokulation nur eine Hepatitis, wenn es gleichzeitig e-Ag enthält (5). - Während daher eine erhöhte Infektionsgefahr durch e-Ag-positive Seren nicht mehr bezweifelt wird, wird für Anti-e-haltige Seren auf der anderen Seite eine weitgehende Nichtinfektiosität diskutiert. Hierfür spricht vor allem das Fehlen funktionsfähiger Dane-Partikel (55,103).

Was den prognostischen Wert des e-Ag angeht, so sind hier die Meinungen geteilt (29,30,56,112,113). Gegen eine Bedeutung des e-Ag in dieser Hinsicht spricht, daß ein negatives e-Ag Chronizität keineswegs ausschließt, daß eine Heilung auch bei persistierendem e-Ag möglich ist und daß das Negativwerden des e-Ag nicht gleichzeitig Heilung bedeutet. Außerdem wurde in verschiedenen Untersuchungen kein Unterschied im Verlauf e-Ag-positiver bzw. -negativer Infektionen beobachtet (16,29,113). Gleichfalls nicht unumstritten ist in dieser Beziehung das Anti-e, das mit einer guten Prognose einhergehen soll (16,26).

Einige Autoren diskutieren einen Zusammenhang des e-Ag bzw. Anti-e mit dem HB_sAg-Subtyp, wobei sie jedoch zu völlig unterschiedlichen Ergebnissen gelangen. Einmal waren Patienten mit Subtyp Y signifikant häufiger e-Ag- bzw. Anti-e-positiv, das andere Mal war es genau umgekehrt (19,75,91); in einem Fall war Subtyp Y mit e-Ag und Subtyp D mit Anti-e korreliert (87). Meistens wird jedoch ein derartiger Zusammenhang bestritten.

Während vor einigen Jahren auch ein Zusammenhang mit dem Alter der Patienten ausgeschlossen wurde, mehren sich in den letzten Jahren die Hinweise, daß vor allem junge Leute betroffen sind, wobei das e-Ag vor allem bei Männern, das Anti-e hingegen hauptsächlich bei Frauen vorkommen soll (7,86,116). Besonders häufig sollen bei bekannt hoher Durchseuchungsrate auch geistig retardierte Patienten betroffen sein. Auch eine Korrelation mit dem ABO-Blutgruppensystem soll nicht auszuschließen sein (46, 50).

4. Aufgabenstellung

Bei Blutspendern, die wegen eines positiven HB_sAg-Befundes aufgefallen waren, sind serologisch meßbare Parameter der Hepatitis B (HB_sAg, Anti-HB_s, Anti-HB_c, eAg, Anti-HB_e) zu untersuchen gewesen.
Die Ergebnisse sollten mit, zum Teil ebenfalls noch zu ermittelnden, Werten von früher abgenommenen Serumproben derselben Spender (Erstabnahmen, die in der Blutzentrale aufbewahrt werden) verglichen werden.

Die Vorstellung war, dadurch über die betreffenden Parameter bei asymptomatischen HB_sAg-Trägern näheren Aufschluß zu erhalten bzw. ihre Entwicklung im Laufe von 1 - 6 Jahren zu beobachten.

Eine zweite Gruppe von Spendern, die wegen zum Teil nur geringfügig erhöhter Transaminasen aufgefallen und vom weiteren Spenden ausgeschlossen worden waren, sollte im Hinblick auf einen möglichen Zusammenhang der erhöhten

Transaminasenwerte mit einer subklinisch verlaufenen HB-Infektion mit Hilfe der angeführten serologisch meßbaren Parameter untersucht werden.

5. Untersuchungsmaterial

Das Untersuchungsmaterial bestand aus den Seren der genannten Blutspender.

Um dieses Material zu erhalten, wurden die in den Karteien der Blutzentrale archivierten Adressen herausgesucht und die betreffenden Personen mit der Bitte angeschrieben, sich von ihrem Hausarzt Blut abnehmen zu lassen und es in einem beigefügten Röhrchen zurückzusenden. Von 230 angeschriebenen Spendern kamen immerhin 49 von 81 (60,4%) aus der ersten Gruppe und 85 von 149 (57%) aus der zweiten diesem Wunsch nach.

Ein Nachteil ergab sich dabei aus der oftmals zu geringen Menge eingesandten Blutes, was in einigen Fällen dazu führte, daß Untersuchungen nicht durchgeführt werden konnten. Ebenso nachteilig wirkte es sich aus, daß einige Seren hämolytisch oder lipämisch waren und damit photometrische Messungen unmöglich machten.

Zusätzlich zu den auf die beschriebene Weise erhaltenen Serumproben waren in der Blutzentrale die Erstabnahmen der Spender aus der ersten Gruppe mit dem positiven HB_s-Ag-Befund, der zum Ausschluß vom Spenden führte, vorhanden. Diese Seren, die bei -20°C aufbewahrt werden, wurden für einige Untersuchungen freundlicherweise von Dr. Sugg zur Verfügung gestellt. Teilweise konnte auf bereits früher in der Blutzentrale erhobene Befunde dieser Erstabnahmen zurückgegriffen werden.

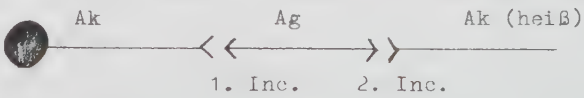
6. Untersuchungsmethoden

6. 1 Radioimmunoassay für HB_sAg

Es handelt sich um den Test Ausria II der Firma Abott,

der nach folgendem Prinzip (Sandwich-Prinzip) durchgeführt wird: In der Testpackung befindliche mit Anti-HB_s beschichtete Kugeln werden in den zu untersuchenden Seren 2 Stunden bei 37° C oder 18 Stunden bei Zimmertemperatur incubiert. Danach werden die Kugeln mit einer speziellen Waschvorrichtung viermal mit aqua destillata gewaschen. Im Anschluß daran werden sie in einem Reagens, das einen mit ^{125}J markierten Antikörper (Anti-HB_s) enthält, erneut 4 Stunden bei Zimmertemperatur incubiert. Nach nochmaligem sorgfältigem Waschen wird die auf der Kugel verbliebene Radioaktivität im Zählgerät gemessen.

Bei dieser Art des Testes lagern sich während der ersten Incubationsperiode an die mit Antikörper besetzten Stellen der Kugel evtl. im Serum vorhandene HB_sAg-Partikel an. In der sich anschließenden zweiten Incubation binden sich an diese wiederum die radioaktiv markierten Antikörper, deren Aktivität nach dem Wegwaschen des übrigen antikörperhaltigen Serums gemessen wird. Folgendes Schema verdeutlicht dies:



Die Auswertung erfolgt nach den Vorschriften der Firma folgendermaßen: Aus den Impulszahlen der mitgeführten negativen Kontrollen (mindestens sieben) wird der Mittelwert gebildet.
Eventuell vorhandene um mehr als 50% vom Mittelwert abweichende Werte werden eliminiert, der Mittelwert neu ermittelt. Nach Multiplikation dieses Wertes mit 2,1 erhält man den sogenannten Cutoff-Wert. Alle Seren, deren Countzahl über diesem liegt, sind als positiv zu betrachten.

Bei Zählgeräten, die den Leerwert (bedingt durch atmosphärische Strahlung) nicht direkt abziehen, muß dieser

in die Berechnung des Cutoff-Wertes nach folgender Formel $(M_{neg} - M_L) \times 2,1 + M_L$ miteinbezogen werden.

6.2 Quantitative Immunelektrophorese

Diese Technik ist eine modifizierte Immunelektrophorese zur quantitativen Bestimmung des HB_sAg-Gehaltes einer Serumprobe.

Der Antikörper liegt dabei als stationäre Phase in konstanter Konzentration in einem Gel vor, dessen pH so gewählt werden muß, daß γ-Globuline im elektrischen Feld keine Ortsveränderung erfahren, das Antigen mit einem niedrigeren isoelektrischen Punkt hingegen zur Anode wandert. Längs der Wanderungsrichtung des Antigenflecks bilden sich auf beiden Seiten Präzipitatlinien, die sich zu einem Bogen schließen, sobald kein freies Antigen mehr zur Auflösung des Präzipitats im Antigenüberschuß vorhanden ist. Mit der Menge eingebrachten Antigens werden also diese Präzipitate länger, bzw. die Länge der Präzipitate ist bei gleichen punktförmig in das Geld eingebrachten Probemengen der Antigenkonzentration direkt proportional. Eine wichtige Rolle spielt dabei die im Gel vorhandene AK-Konzentration; hohe AK-Konzentrationen ergeben kurze Präzipitate mit kräftigen Linien, zu niedere Konzentrationen hingegen lassen die Präzipitatlinien zu schwach hervortreten.

Bei der Durchführung wurde weitgehend nach der von W. Gerlich (44) angegebenen Methodik vorgegangen: 3,1 ml Puffergemisch (zu gleichen Teilen Gel und Puffer der angegebenen (siehe unten) Zusammensetzung) werden erwärmt und auf einem sorgfältig nivellierten Objektträger ausgegossen. Mit einem eigens zu diesem Zweck hergestellten Stanzstempel werden nach dem Erkalten neun nebeneinanderliegende Löcher mit einem Volumen von jeweils 10 μl an der Längsseite des Objektträgers ausgestanzt und gleichzeitig das Gel in einer geraden Linie neben diesen Löchern durchtrennt. Der weit-

aus größere Teil wird sodann mit dem Messer abgehoben und der Inhalt der Löcher mittels einer Wasserstrahlpumpe herausgesaugt. Der nunmehr freie Teil des Objektträgers wird mit 2,3 ml AK-haltigem Gel ausgegossen. Dabei ist darauf zu achten, daß das Gel während des Giessens warm genug ist, um sich möglichst gleichmäßig verteilen zu können, andererseits jedoch nicht zu heiß (nicht über 56° C), um den Antikörper nicht zu schädigen. Die so vorbereiteten Objektträger werden in die Elektrophoresekammer mit der Lochreihe auf der Kathodenseite eingebracht; die Löcher werden mit jeweils 10 µl der Serumproben gefüllt. Dabei ist auf größte Genauigkeit zu achten. Auf jedem Objektträger wird ein Kontrollserum mit definiertem HB_sAg-Gehalt mitgeführt. Nach Auflegen des Filterpapiers, das auf jeder Seite 1 - 2 mm in das Gel reichen soll, soll ein möglichst konstanter Strom über eine festgelegte Zeitspanne fließen; dies aus folgendem Grund: Nach der Gleichung U = RJ würde in einem System, in dem während der Elektrophoresedauer der Widerstand abnimmt (um ein solches handelt es sich hier), bei konstant gehaltener Spannung die Stromstärke ansteigen und damit zu erhöhter Wärmeproduktion im Gel mit allen nachteiligen Folgen (zunehmende Diffusion, Konvektionsstörungen, Tunnelphänomen) führen (108). Hält man hingegen die Stromstärke konstant, so fällt bei abnehmendem Widerstand die Spannung und damit auch die Feldstärke im Gel ab; eine längere Laufzeit ist die Folge. Da der Widerstand im vorliegenden Fall vor allem zu Beginn des Laufes, wenn das Gel ohnehin noch Zimmertemperatur hat, bei der eine Änderung der Stromstärke noch keine gravierenden Folgen hat, stark abfällt, wäre es die optimale Lösung, zu Beginn die Spannung, im weiteren Verlauf die Stromstärke konstant zu halten. Aus Gründen der einfacheren Durchführung (mehrere Stunden Laufzeit über Nacht) wurde jedoch darauf verzichtet.

Die praktische Durchführung erforderte einige Veränderungen gegenüber der verwendeten Vorschrift, da nicht

in allen Punkten dieselben Ausgangsbedingungen gegeben waren.

Zunächst galt es, unter drei zur Verfügung stehenden Antikörpern den für diesen Zweck bestmöglichen herauszufinden. - Von großer Wichtigkeit war auch die Frage der Antikörperkonzentration, die gegenüber den Angaben nach zahlreichen Vorversuchen geringfügig geändert wurde. - Für die bestmögliche Technik des Plattengießens war die Installation einer sorgfältig nivellierten vorgewärmten Platte notwendig. Mehrfach wurden die Elektrophoresezeit und die Stromstärke variiert, ebenso die Art und die Länge des Filterpapiers, das entweder an den Längsseiten des Objektträgers überstehend, mit den Platten abschließend oder etwas kürzer aufgelegt wurde, um mögliche Auswirkungen, vor allem auf die Kontinuität des elektrischen Feldes, erkennen zu können.

Anhand der Ergebnisse dieser Versuche wurde statt der angegebenen Antikörperkonzentration von 0,2 ml/2,3 ml Gel eine solche von 0,25 ml/2,3 ml Gel gewählt; verwendet wurde der Antikörper der Firma Biotest. Die Elektrophoresezeit und die Stromstärke wurden mit 8 Stunden und 8 mA/ Platte letztlich beibehalten. Das Filterpapier wurde mit den Enden abschließend aufgelegt.

Eine große Rolle spielte schließlich die Elektrophoresekammer. Nachdem mit zwei in der Routinediagnostik verwendeten Kammern ungenügende Ergebnisse erzielt wurden, wurde auf die in der Anleitung angegebene Shandon-Kammer U77 zurückgegriffen.

Unverändert blieb die Zusammensetzung des Gels (Indubiose A37, L'Industrie Biologique Française) und des Puffers (0,07 M Veronalpuffer pH 8,6; 15,4 g Natriumbarbital, 0,25 g Natriumazid in einem Liter demineralisiertem Wasser gelöst), der zur Verwendung als Kammerpuffer 1 : 2

verdünnt wird. Zum Gießen der Objektträger wird ein Puffer - Gel - Gemisch (1 : 1) verwendet.

Ein weiteres Problem stellte das Ablesen der Ergebnisse, d. h. die Messung der Präzipitatlänge, dar. - Da ein entsprechendes Gerät nicht zur Verfügung stand, wurden zunächst Versuche mit einem modifizierten Mikroskop und einer Meßlupe unternommen. Dieses Vorgehen bewährte sich jedoch nicht, da durch die Manipulationen am Objektträger das Gel in den meisten Fällen verschoben wurde und damit eine Auswertung nicht mehr möglich war. Daher wurde ein photographisches Verfahren versucht, das in der Lage war, die gestellten Anforderungen zu erfüllen. Dies gelang weitgehend, wenngleich auch diese Methode nicht ohne Mängel ist; z. B. ist die Startlinie auf den Photographien nicht genau zu erkennen, da immer ein Überstrahlungseffekt, bedingt durch die beiden Gel-Schichten, die an dieser Stelle aneinandergrenzen, auftritt. Dadurch erscheint die Startlinie verbreitert und bedingt bereits eine gewisse Ableseungenauigkeit. - Nachdem der Variationskoeffizient für Kontrollseren, von denen auf jedem Objektträger immer dieselbe Menge (10 µl) in alle 9 Löcher eingebracht wurde, von anfangs 15% auf Werte von maximal 7% gedrückt werden konnte, (dieser Wert als Maß für die Intraassay-Präzision ist nach Gerlich nicht zu unterschreiten), galt es, mittels eines Serums mit definiertem HB_sAg-Gehalt eine Eichkurve aufzustellen. Hierzu wurde ein Referenzserum des Hygiene-Instituts Göttingen mit 65 µg HB_sAg/ml, Subtyp D, verwendet; es wurde in Konzentrationen von 100, 80, 60, 40, 20, 10 und 5% eingesetzt. Für jede Konzentration wurde der Mittelwert aus sieben Werten (von sieben verschiedenen Objektträgern) ermittelt und als Eichwert in eine Kurve eingetragen. Die Variationskoeffizienten lagen dabei unter 5%, mit Ausnahme der mit relativ hoher Ableseungenauigkeit behafteten niedrigen Konzentrationen von 10 und 5% des Standards, bei denen der Variationskoeffizient mit 7% seinen höchsten

Wert erreichte. Auch dieser Wert (Interassay-Präzision) ist hervorragend.

Da es sich bei dem verwendeten Standard um den Subtyp D des HB_sAg handelte, gilt die so erhaltene Eichkurve generell nur für Serumproben, die ebenfalls dem Subtyp D angehören. Ein Standard des Subtyps Y stand jedoch nicht zur Verfügung, sodaß eine zweite Eichkurve nicht erstellt werden konnte. In Anbetracht der geringen Zahl von Serumproben des Subtyps Y (29 der 40 Seren waren im Rahmen früherer Untersuchungen (39) subtypisiert worden; nur 2 wiesen den Subtyp Y auf) war dies jedoch auch nicht von herausragender Bedeutung. Insbesondere, da ein Vergleich der Erstabnahme eines Serums mit Subtyp Y mit einer späteren Abnahme trotzdem möglich war; eine exakte Bestimmung des HB_sAg-Gehaltes und ein Vergleich mit Proben des Subtyps D war allerdings nicht möglich.

Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 0,5 µg/ml, der quantitative Meßbereich reicht von 5 - 65 µg/ml. (Zum Vergleich: bei 0,5 µg/ml ist im Radioimmunassay Ausria II bereits der obere Sättigungsbereich erreicht).

6.3 Radioimmunassay für Anti-HB_s-Antikörper

Es handelt sich um den Ausab-Test der Firma Abbott. Er beruht ebenfalls auf dem "Sandwich-Prinzip"; die Kugeln sind mit HB_sAg der Subtypen ad und ay besetzt. Die Auswertung erfolgt analog zum bereits beschriebenen Schema (Ausria II).

6.4 Radioimmunassay für Anti-HB_c-Antikörper

Der Test ist ebenfalls von der Firma Abbott entwickelt und trägt den Namen CORAB™. Er basiert im Gegensatz zu den anderen auf dem Prinzip der kompetitiven Verdrängung. 100 µl des zu untersuchenden Serums und 100 µl Serum, das mit ^{125}J markiertes Anti-HB_c enthält, werden vermischt, bevor die mit HB_cAg beschichtete Kugel

dazu gegeben wird. Die Kugeln werden in diesem Gemisch 18-24 Stunden incubiert; während dieser Zeit konkurrieren die im Gemisch enthaltenen radioaktiven und die eventuell vorhandenen nicht radioaktiven Anti-HB_c-Partikel um die Bindungsstellen des auf den Kugeln befindlichen HB_cAg. Je mehr nicht radioaktives Anti-HB_c vorhanden ist, um so weniger radioaktives kann diese besetzen, d.h. je weniger Radioaktivität nach dem anschließenden sorgfältigen Waschen auf der Kugel gemessen wird, um so höher ist der Anti-HB_c-Gehalt der untersuchten Probe.

Dieses Verfahren hat gegenüber den vorher beschriebenen den Vorteil, daß nur einmal incubiert und gewaschen werden muß, und damit die potentiellen Fehlerquellen verringert werden. Es hat hingegen den großen Nachteil, daß bei unsorgfältigem Waschen falsch negative Ergebnisse produziert werden, die im Routinealltag nicht mehr nachkontrolliert werden und nicht falsch positive, die wohl wiederholt werden würden.

Der Grenzwert (Cutoff-Wert) wird aus den Mittelwerten der positiven und negativen Kontrollen berechnet.

$$\text{Cutoff} = \frac{M_{\text{neg. Kontr.}} + M_{\text{pos. Kontr.}}}{2}$$

Der Leerwert kann hier unberücksichtigt bleiben. Ein Kriterium für die Qualität des Testes ist die Positiv-Negativ-Ratio, der Quotient aus M_{neg}/M_{pos}; er muß über 5 liegen.

Bei Titrierung der Seren bietet der Test außerdem die Möglichkeit, den Grenzwerttiter, d. h. den Titer, bei dem die Countzahl der Probe gleich der des Cutoffs ist, die Anti-HB_c-Konzentration der Probe also der des Cutoff-Wertes entspricht über nur wenige Titerstufen zu berechnen. Im mittleren Meßbereich besteht nämlich eine lineare

Beziehung zwischen Impulszahl und Anti-HB_c-Konzentration. Trägt man nun die Meßwerte der Impulszahlen in Abhängigkeit des Titers als einem Maß für die Anti-HB_c-Konzentration auf, so erhält man für verschiedene Proben parallele Kurven. An den Kreuzungspunkten dieser Kurven mit der x-Achsenparallelen durch den Cutoff-Wert haben alle Serumproben die gleiche Grenzwertkonzentration, der zugehörige Grenzwerttiter des jeweiligen Serums kann direkt auf der x-Achse abgelesen werden. Zur Auswertung werden die Meßpunkte der beiden Titerstufen, die dem Cutoff-Wert am nächsten und noch im linearen Bereich liegen, verbunden. Am Kreuzungspunkt dieser Geraden mit der x-Achsenparallelen durch den Cutoff-Wert kann der Grenzwerttiter bestimmt werden. Wegen der Parallelität der Kurven kann der Titer bei Kenntnis der Steigung im linearen Kurvenbereich und nur eines Meßpunktes auch berechnet werden, was sich in der Praxis wesentlich vereinfachend auswirkt.

6.5 Nachweis des e-Antigens

Der Radioimmunassay zum Nachweis des e-Antigens wurde in der Blutzentrale Tübingen selbst entwickelt; alle Reagenzien, vor allem der verwendete radioaktiv markierte Anti-e-Antikörper, wurden freundlicherweise von Dr. Sugg zur Verfügung gestellt (107).

Er beruht ebenfalls auf dem Sandwich-Prinzip. Hier muß, da beschichtete Kugeln nicht erhältlich sind, die Wand von Reaktionsgefäßen (Eppendorf), die zur Incubation benutzt werden, mit Anti-e durch Zugabe von 0,2 ml einer 1:800-Verdünnung eines Serums mit hohem Anti-e-Titer (1:64 in der Immundiffusion) in 0,1-M-Carbonatpuffer, pH 9,5 , beschichtet werden. Hierzu werden die Gefäße mit dieser Verdünnung 24 Stunden bei Raumtemperatur incubiert, danach fünfmal mit destilliertem Wasser gewaschen. In den so vorbereiteten Gefäßen werden 0,2 ml des fraglich e-Ag-haltigen Serums 24 Stunden incubiert, danach wird erneut fünfmal gewaschen. Am dritten Tag wird der radio-

aktiv markierte Antikörper zugesetzt und ebenfalls 24 Stunden bei Raumtemperatur incubiert.

Zur Herstellung des radioaktiven Antikörpers wird eine JgG-reiche Fraktion, die durch Fällung bei einer 40%igen Ammoniumsulfatsättigung aus einem HB_sAg-haltigen Serum mit hohem Anti-e-Titer (1:64 in der JD) gewonnen wird, mittels einer modifizierten Chloramin-T-Methode mit ^{125}J markiert. Das verwendete Serum muß vorher durch Zugabe von $MgSO_4$ und Dextransulfat 500 (Pharmacia, Uppsala, Schweden) weitgehend von Lipoproteinen, die JgG-reiche Fraktion durch Ultracentrifugation von HB_sAg befreit worden sein.
Nach fünfmaligem sorgfältigem Auswaschen des radioaktiven Serums werden die Reaktionsgefäße im Zählgerät ausgewertet. Die Berechnung des Grenzwertes entspricht der des HB_sAg-Radioimmunassays.

6.6 Nachweis des Anti-e-Antikörpers

Die primär mit Anti-e beschichteten Reaktionsgefäße (s.o.) werden mit je 0,2 ml einer 1:50-Verdünnung in PBS eines HB_cAg enthaltenden Plasmas für 24 Stunden bei Raumtemperatur incubiert und anschließend gewaschen. Die zugegebene Antigen-Menge ergibt eine spezifische Bindung des radioaktiven Anti-e, die 5 - 6mal höher liegt als die unspezifische Bindung antigenfreier Proben.

Nach 24-stündiger Incubation der nunmehr doppelt beschichteten Gefäße mit je 0,2 ml des zu untersuchenden Serums wird nach Waschung der radioaktive Antikörper für ebenfalls 24 Stunden zugegeben. Danach wird erneut sorgfältig gewaschen. Während der letzten Incubation kann das radioaktive Anti-e die noch freien Bindungsstellen des e-Ag besetzen.

Der eigentliche Test beruht also auf dem Prinzip des sogenannten blocking-Tests. Hohe Countzahlen bedeuten negative Proben. Die Methode hat denselben Nachteil, der bereits beim RIA für Anti-HB_c erwähnt wurde, nämlich

in der Routine eher falsch negative als falsch positive Ergebnisse zu liefern.

Die Auswertung erfolgt nach dem bereits beim Anti-HB_c beschriebenen Schema. Die Positiv-Negativ-Ratio fällt allerdings ungünstiger aus.

7 Ergebnisse und Diskussion

7.1 Ergebnisse der HB_sAg-Träger

Die Seren dieser Gruppe wurden in zwei Untergruppen eingeteilt. Die erste Untergruppe enthält alle Seren von Spendern die bei der Erstuntersuchung nicht nur im Radioimmunassay, sondern auch in der Elektrophorese einen positiven HB_sAg-Befund aufwiesen; der HB_sAg-Gehalt dieser Seren ist also relativ hoch. Die zweite Untergruppe bestent aus den Seren, bei denen bei der Erstuntersuchung nur im Radioimmunassay ein positives HB_sAg nachweisbar war.

Tabelle 1

	Untergruppe A		Untergruppe B	
	frühere Abnahmen	jetzige Serumproben	frühere Abnahmen	jetzige Serumproben
vornanden u. getestet	32	40 +)	7	9 +)
HB_sAg	40 [1 +)]	39(97,5)	9 [1 +)]	4 (44)
Anti-HB_s	nicht getestet	6 [2](15)	nicht getestet	3 (33)
Anti-HB_c	32 [4](100)	40 (100)	5 (71)	7 (77)
Anti-e	21 [3](60)	31 (77,5)	nicht getestet	2 (22)
e-Ag	0 [3]	0	nicht getestet	0

+) ident.
1) Befund der Erstuntersuchung, bei der die Spender aufgefallen waren
2) 7 Seren (5 der U-Gruppe A, 2 der U-Gruppe B) waren sowonl HB_sAg- als auch Anti-HB_s-positiv
3) Übernommene Ergebnisse der Immundiffusion; 35 der 40 Seren waren getestet worden
4) Die Seren wurden erst jetzt auf Anti-HB_c getestet, d.h. es konnten nur 32 Proben getestet werden.

-Angabe in Klammer bezeichnet den prozentualen Anteil-

Tabelle 2

Untergruppe A

40 Serumproben wurden im RIA untersucht

auf HB_sAg:	39 (97,5%)	waren positiv
" Anti-HB_s:	6 (15%)	waren positiv, davon waren 5 gleichzeitig HB_sAg-positiv
" Anti-HB_c:	40 (100%)	waren positiv, alle zeigten hohe Titer
" Anti-e:	31 (77,5%)	waren positiv
" e-Ag:	0	waren positiv

Von den Erstabnahmen derselben Spender lagen folgende Ergebnisse bereits vor (39)

Anti-e (Immundiff.):	35	waren untersucht worden
	21 (60%)	waren positiv
Subtypisierung:	29	waren subtypisiert worden
	27 (94%)	wiesen den Subtyp D auf

32 der Erstabnahmen waren noch vorhanden. Sie wurden im RIA auf Anti-HB_c untersucht; alle waren positiv und zeigten hohe Titer.

Untergruppe B

9 Serumproben wurden im RIA untersucht

auf HB_sAg	4 (44%)	waren positiv, 2 davon zeigten nur sehr niedrige Impulsraten
" Anti-HB_s:	3 (33%)	waren positiv, 2 davon gleichzeitig HB_sAg-positiv
" Anti-HB_c:	7 (77%)	waren positiv, die Titer schwankten erheblich und lagen durchweg unter denen der Untergruppe A
" Anti-e:	2 (22%)	waren positiv
" eAg:	0	waren positiv

7 Erstabnahmen waren noch vorhanden. Sie wurden im RIA auf Anti-HB_c untersucht; 5 (71%) waren positiv.

7.1.1 Altersverteilung

Bei den asymptomatischen HB_sAg-Trägern scheinen die jüngeren Menschen zu überwiegen. Das Durchschnittsalter beträgt hier 32 Jahre. Männer scheinen eher betroffen. Dies könnte mit der Auswahl der Personen zusammenhängen; es ist jedenfalls denkbar, (im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde dies nicht geklärt), daß sich zum Blutspenden mehr junge Männer als Frauen bzw. ältere Menschen bereitfinden, und somit dieser Befund dem Durchschnitt der Blutspender durchaus entspricht. In der Literatur findet sich jedoch eine ähnliche Verteilung (13,82,109).

7.1.2 HB_sAg

7.1.2.1 Ergebnisse der Untergruppe A

Von 40 Spendern der Untergruppe A sind nach Ablauf eines Zeitraumes von 1 - 6 Jahren (durchschnittlich 3,4 J) - so lange liegen die ersten Befunde zurück - 39 noch positiv. Sie zeigen RIA-Faktoren zwischen 32 und 64, das entspricht bei den verwendeten Testchargen hohen Werten. Quantitative Aussagen, die ein Ansteigen bzw. ein Abfallen der HB_sAg-Konzentration erkennbar machen würden, sind mit diesem Test nicht möglich.

Ein Persistieren des HB_sAg über mehrere Jahre ist bei asymptomatischen Carriern die Regel. Lediglich die Dauer, d.h. lebenslang oder begrenzt, ist noch Gegenstand der Diskussion (13,15,36,69). In dieser Hinsicht eine Ausnahme bildet das einzige Serum, das nun HB_sAg-negativ ist. Dazu allerdings ist folgendes anzumerken: Die Spender dieser Gruppe wurden aufgrund eines einmaligen HB_sAg-Befundes vom Spenden ausgeschlossen. Blieben in der Folgezeit Symptome einer Hepatitis aus, so wurde der Befund meist nach einer Zeit von 1 - 2 Monaten wieder kontrolliert; war er erneut positiv, so wurden die Spender als asymptomatische Carrier vom weiteren Spenden endgültig ausgeschlossen. Eine weitere Kontrolle erfolgte nur in den

wenigsten Fällen, wenn sich die Spender auf eigene Initiative zur nochmaligen Kontrolle einstellten. Dieses Vorgehen schließt aber in Anbetracht einer 2 - 3monatigen HB_sAg-Persistenz bei unkompliziertem subklinischem Verlauf nicht aus, daß der Spender während einer Infektion bzw. in deren Incubationszeit zweimal untersucht wurde. Der jetzt negative HB_sAg-Befund eines Serums bedeutet also nicht unbedingt, daß hier ein Virusträger nach mehreren Jahren HB_sAg-negativ geworden ist; dies ist damit aber auch keineswegs ausgeschlossen. Eine Klärung dieser Frage ist im vorliegenden Fall auch nach Ermittlung weiterer Parameter (Anti-HB_s ist positiv, der Anti-HB_c-Titer beträgt 1:6000, Anti-e ist positiv und eAg negativ; die Erstabnahme zum Vergleich war nicht mehr vorhanden) nicht möglich.

Von Interesse ist in diesem Fall, daß der betreffende Spender von 1968 - 1970, also vor dem routinemäßigen HB_sAg-Screening, insgesamt 12mal Blut gespendet hat. Er war dabei in keinen Fall einer Posttransfusionshepatitis verwickelt. - Einerseits könnte dies bedeuten, daß es sich um einen nichtinfektiösen asymptomatischen Carrier gehandelt hat, andererseits aber auch dafür sprechen, daß der Spender eine subklinische Infektion zu einem späteren Zeitpunkt durchgemacht hat.

7.1.2.2 Ergebnisse der Untergruppe B

Bei den Seren der Untergruppe B, die bereits bei der ersten Untersuchung sehr niedrige RIA-Faktoren aufwiesen und in der Elektrophorese negativ waren, erbrachte die erste routinemäßige Kontrolluntersuchung in der Blutzentrale nach zwei Monaten bereits bei 3 der 9 Seren einen negativen Befund. Es könnte sich in diesen Fällen folglich um subklinische Infektionen zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung gehandelt haben. Derartig niedrige RIA-Faktoren bei nur einer positiven Bestimmung lassen jedoch auch an eine Kontamination durch HB_sAg-positive Seren während der

Testdurchführung denken. In der jetzt, nach einem Zeitraum von 1 - 2 Jahren (durchschnittlich 1,9 J.), durchgeführten Untersuchung sind außer den 3 erwähnten zwei weitere negativ. Zwei zeigen jedoch deutlich positive Werte (RIA-Faktoren von 20 bzw. 25); zumindest in diesen beiden Fällen dürfte es sich also tatsächlich um asymptomatische Virusträger handeln. Dies muß auch für die restlichen beiden Seren, die jetzt erneut niedrige RIA-Faktoren aufweisen, angenommen werden. - Es gibt folglich offenbar auch Carrier mit sehr niedrigem HB_sAg-gehalt.

In beiden Untergruppen zusammen sind also im Laufe von 0,5 - 6 Jahren (durchschnittlich 3,1 J.), von 49 Spendern, die wegen eines in der Routinediagnostik festgestellten positiven HB_sAg-Befundes aufgefallen waren, 6 negativ geworden. Ob es sich in diesen Fällen um asymptomatische Carrier gehandelt hat oder ob den bei der Erstuntersuchung erhobenen Befunden lediglich eine subklinische Infektion zugrunde lag, kann zum heutigen Zeitpunkt auch unter Berücksichtigung weiterer Parameter (Anti-HB_c, Anti-HB_s, Anti-e, eAg) nicht festgestellt werden.

7.1.3 Quantitative Immunelektrophorese

39 frühere Abnahmen von 32 Spendern (teilweise waren von einem Spender mehrere Proben vorhanden) und 39 der 40 neu erhaltenen Seren (eines war im RIA negativ) wurden getestet. Verzichtet wurde auf alle Seren der Untergruppe B, da diese bereits bei der Erstabnahme in der EE negativ gewesen waren und auch die neuen Serumproben im RIA niedrige Werte aufwiesen.

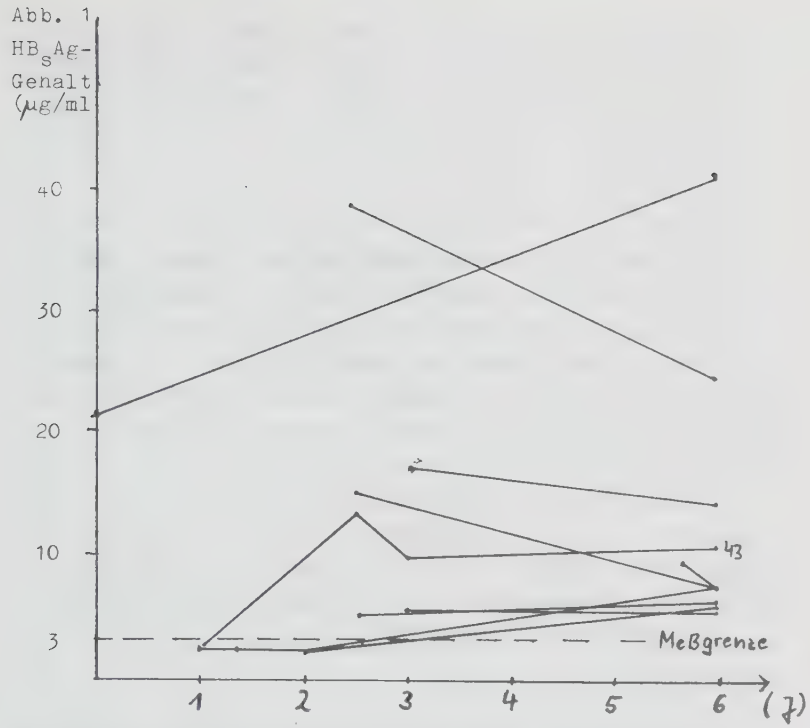
Auf jeder Platte wurde eine Standardprobe mit definiertem HB_sAg-Gehalt mitgeführt, um eine Kontrolle des betreffenden Durchgangs zu ermöglichen. Bei 5 Platten wichen die Werte des Standards zu stark ($> 10\%$) vom Eichwert ab; eine Auswertung erschien daher wenig sinnvoll. Da sich aber auf den betreffenden Platten teils Proben der früheren, teils der neuen Abnahmen befanden, blieben letztend-

lich für einen Vergleich von alten und neuen Proben nur 10 Seren übrig; von zwei dieser Seren waren 4 Proben vorhanden. Bei 15 weiteren Seren konnte nur eine Probe ausgewertet werden (in 5 Fällen die neue, in 10 nur die frühere Abnahme). Alle Seren des Subtyps Y mußten ausgeklammert werden.
Die Angabe für das Serum Nr. 19 in Tabelle 3, das dem Subtyp Y angehört, ist folglich nicht absolut zu sehen: es wurde lediglich im Rahmen des Vergleichs zwischen erster und zweiter Abnahme herangezogen.

In Tabelle 3 wurden die Ergebnisse der Seren im einzelnen aufgeführt und in der Abb. 1 graphisch dargestellt.

Tabelle 3

Serumnummer	Erste Abnahme HB_sAg(E/ml)	dazwischenliegende Zeit	Spätere, bzw. neueste Abnahme(n)
2	4,9	3 Jahre	4,9
35	3 3 3	2 Monate 9 Monate 4 Jahre	3 3 7,5
36	14,5	3,5 Jahre	7,5
37	16,2	3 Jahre	13,8
41	3	4 Jahre	5,0
42	39	3,5 Jahre	25,0
43	3 12,5 9	1,5 Jahre 0,5 Jahre 4 Jahre	12,5 9 10,8
44	4,5	3,5 Jahre	5,4
46	21,7	6 Jahre	40,6
19 Subtyp Y	9,2;7,3	4 Monate	-



Man sieht, daß die HB_sAg-Konzentrationen außerordentlich variieren; der höchste Wert wurde mit 40,6 ug/ml ermittelt, die niedrigsten lagen unter 3 ug/ml, ein Wert, der allerdings im RIA noch deutlich im oberen Sättigungsbereich liegen würde. Die Mittlere Konzentration, zu deren Errechnung auch die 15 weiteren Seren herangezogen wurden, lag bei 14,5 ug/ml.

Weiterhin ist ersichtlich, daß der HB_sAg-Gehalt über einen längeren Zeitraum nahezu konstant bleiben kann; stärkere Änderungen sind eher die Ausnahme. Das Serum Nr. 43, das am Anfang einen starken Anstieg zeigt (von 3 auf 12,5 ug/ml in 1,5 Jahren), stammt von einem Spender, der vor Einführung der routinemäßigen HB_sAg-Kontrolle mehrere Male gespendet hatte, also bis kurze

Zeit vorher in regelmäßigen Abständen von 2 - 3 Monaten überwacht wurde. Er befand sich also wahrscheinlich im Anfangsstadium der HB_s-Antigenämie.

7.1.4 Anti-HB_s

In der Untergruppe A finden sich im RIA jetzt 6 Seren mit positivem Anti-HB_s-Befund. Eines dieser 6 zeigt einen Titer von 1:4 ; es handelt sich dabei um das einzige jetzt HB_sAg-negative Serum der Untergruppe A. - Auch dieser Befund spricht weder gegen die Annahme einer subklinischen Infektion noch gegen die Möglichkeit, daß ein Carrier nach längerer Zeit HB_sAg-negativ geworden ist und dabei Anti-HB_s entwickelt hat.

Die 5 anderen Anti-HB_s-Befunde bei persistierendem HB_sAg sind wahrscheinlich Folge zweier aufeinanderfolgender Hepatitis-B-Infektionen mit unterschiedlichem Subtyp. Warum einmal Immuntoleranz, das andere Mal eine spezifische Immunreaktion mit Antikörperbildung die Folge ist, ist nicht geklärt.

Zur Abklärung des HB_sAg- bzw. Anti-HB_s-Subtyps wurden die 5 Seren einmal mit HB_sAg Subtyp D, das zweite Mal mit HB_sAg Subtyp Y incubiert. Handelte es sich z. B. um einen Carrier mit Subtyp D, so war ein Antikörper gegen Antigen dieses Subtyps nicht zu erwarten; folglich mußte der im Serum vorhandene Antikörper durch Antigen des anderen Subtyps zu neutralisieren sein. Keine Beeinflussung der Antikörperaktivität durfte hingegen durch Incubation mit Antigen desselben Subtyps zustande kommen. Von den 5 Seren waren 3 bereits bei der Erstabnahme subtypisiert worden. Sie wiesen den Subtyp D auf. - Die Ergebnisse waren wie erwartet: der Antikörper wurde bei den 3 Proben mit HB_sAg, Subtyp D, durch HB_sAg des Subtyps Y völlig neutralisiert, blieb aber bei Incubation mit HB_sAg, Subtyp D, völlig unbeeinflußt. Ebenso verhielt es sich bei einem der beiden

nicht subtypisierten Seren. Das läßt auf das Vorliegen von anti-y bei gleichzeitigem Vorhandensein von HB_sAg, Subtyp D, schließen.
Umgekehrt verhielt es sich bei dem fünften Serum, dessen Antikörper folglich die Spezifität anti-d bei gleichzeitig vorhandenem HB_sAg, Subtyp Y, aufweist.

Die hier gefundene Ag/AK-Konstellation ist auch in der Literatur (53,81) beschrieben, wobei festgestellt wurde, daß Antikörper gegen die Komponente a des Antigens (Erklärung s. 3.1.2) nicht vorkommen. Dies gilt auch für die vorliegenden Fälle. Auffallend ist lediglich der hohe Anteil (7 von 49 Spendern aus beiden Untergruppen), der in dieser Höhe bisher nicht beschrieben war. Eine Erklärung dafür ist allerdings nicht zu finden.

In der Untergruppe B finden sich zwei weitere derartige Fälle. Es handelt sich bei diesen um die beiden Spender, die jetzt im HB_sAg deutlich positive Befunde zeigen.

Zusätzlich ist 1 Serum Anti-HB_s-positiv, das bereits bei der ersten Kontrolle HB_sAg-negativ war. Es zeigt einen sehr hohen Anti-HB_s-Titer (1:5600), d.h., in diesem Fall lag mit großer Wahrscheinlichkeit eine zum Zeitpunkt der erstmaligen HB_sAg-Feststellung ablaufende subklinische Infektion vor.
Von 49 Spendern aus beiden Untergruppen sind also nach 0,5 - 6 Jahren 9 Anti-HB_s-positiv; 7 davon sind zusätzlich HB_sAg-positiv, d.h. vermutlich Spender, die zwei Infektionen mit verschiedenem Subtyp durchgemacht haben.

Zwei weitere (4%) sind jetzt HB_sAg-negativ, d.h. hier liegen Serokonversionsreaktionen von HB_sAg zu Anti-HB_s vor.

7.1.5 Anti-HB_c

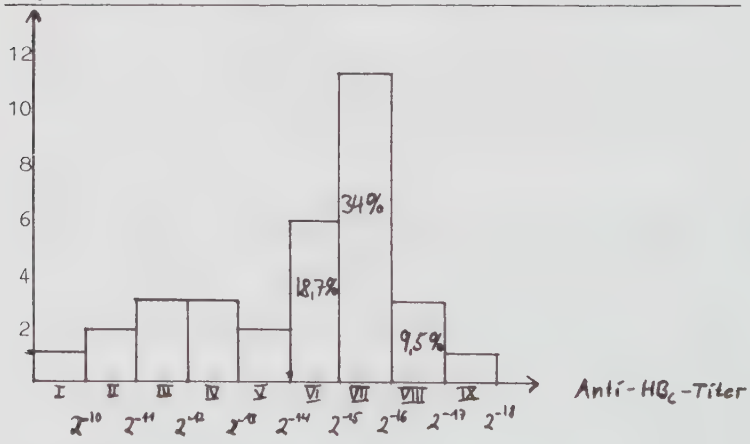
7.1.5.1 Ergebnisse der Untergruppe A

Die Verlaufskurve des Anti-HB_c ist sowohl bei unkompli-

ziertem wie auch bei chronischem Verlauf nicht vollständig geklärt. Sicher ist, daß alle asymptomatischen Virusträher hohe Titer zeigen. Dies konnte auch für die Seren der Untergruppe A festgestellt werden. Die Titerhöhe schwankte allerdings außerordentlich im Bereich von 1:1000 bis 1:130 000.

Da die Seren von den ersten Abnahmen zum großen Teil noch vorhanden waren (in 39 von 49 Fällen) bot sich ein Titervergleich an. Dadurch konnten Vergleiche über einen Zeitraum von 1 - 6 Jahren angestellt werden.

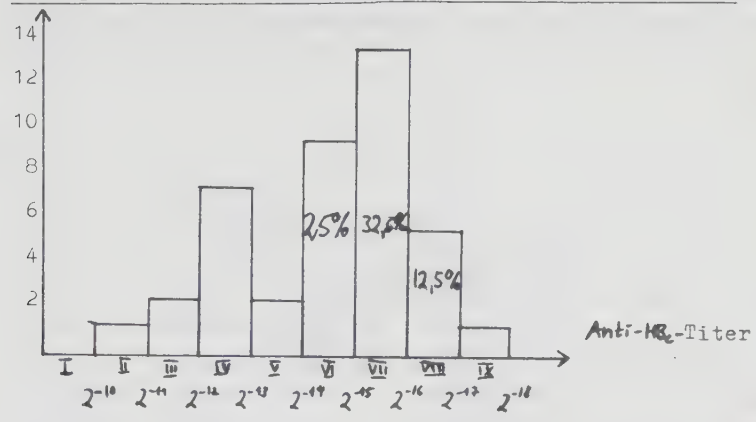
Abb. 2
Verteilung der Anti-HB_c-Titer der Erstabnahmen von 32 HB_sAg-positiven Serumproben im Bereich $1:2^{10}$ bis $1:2^{18}$



Mittelwert 1:17800

Abb. 3

Verteilung der Anti-HB_c-Titer von 40 HB_sAg-positiven Serumproben ein einem Titerbereich von $1:2^{10}$ bis $1:2^{18}$



Mittelwert 1:23...

In Abb. 3 wurden die Seren der Untergruppe A aus Gründen der Übersichtlichkeit in Bereichen zusammengefaßt, die ab Titer 2^{10} jeweils eine Titerstufe auf Basis 2 umfassen, in Abb. 2 in gleicher Weise die 32 noch vorhandenen Erstabnahmen.

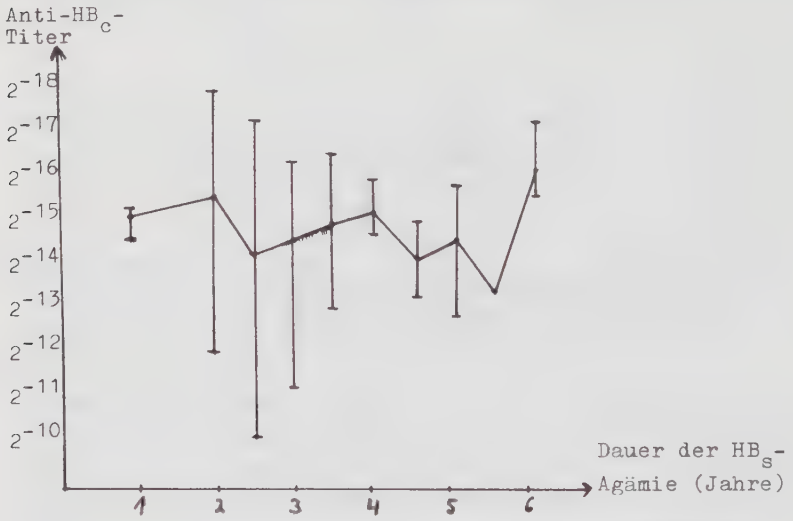
Man sieht, daß die hohen Titer deutlich überwiegen, in beiden Fällen liegen mehr als 50% der Anti-HB_c-Titer in Bereichen oberhalb eines Titers von $1:2^{14}$ (1:16400). Nur ein Titer liegt jedoch höher als $1:2^{17}$ (1:131000).

Tabelle 4

Dauer der HB_sAg-Ämie (J)	Anti-HB_c-Titer (geometr. Mittelwerte)	Zahl der Proben
1	1:24 900	2
2	1:41 800	5
2,5	1:15 500	7
3	1:20 000	4
3,5	1:29 400	4
4	1:35 600	5
4,5	1:12 400	3
5	1:19 200	3
5,5	1: 8 200	1
6	1:60 700	3
		37

Bei 3 der 40 Spender war der Termin der Erstabnahme nicht mehr feststellbar.

Abb. 4
Anti-HB_c-Titer von 37 HB_sAg-positiven Personen in Abhängigkeit von der Dauer der HB_sAgämie.
Mittelwert und jeweilige Extremwerte sind aufgeführt. n = 37



In Tabelle 4 und Abb. 4 wurde für 37 HB_sAg-positive Personen die Zeit berücksichtigt, die seit der ersten Abnahme zurückliegt, d. h. die Titerhöhe in Abhängigkeit der Zeitdauer der Agämie. Die Mittelwerte und die jeweils extremen Werte der Anti-HB_s-Titer der nach der Zeitdauer der HB_sAgämie in Gruppen zusammengefaßten Serumproben wurden graphisch dargestellt.

Man sieht, daß der Mitteltiter keine eindeutige Tendenz zeigt und die Schwankungsbreite der Extremwerte gleichbleibend hoch ist. Eine Abhängigkeit der Anti-HB_c-Konzentration von der Dauer der HB_s-Antigenämie kann hieraus nicht gefolgert werden.

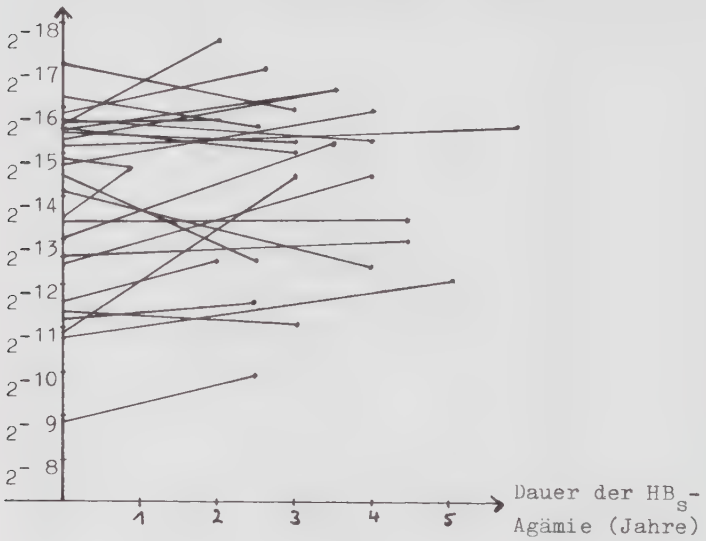
Aus Tabelle 5 und Abb. 5 ist ersichtlich, daß mehrere hohe Titer über einige Jahre persistieren bzw. sich um weniger als eine Titerstufe verändern.

Tabelle 5

Serum-Nummer	Anti-HB_c-Titer der Erstabnahme	Anti-HB_c-Titer d. neuen Abnahme	Zwischen den Abnahmen liegende Zeit (J)
2	2500	2300	3
5	43000	39000	3
7	460	1070	2,5
9	68000	47000	2,5
10	7000	35000	4
11	3100	6730	2
12	45000	28000	3
13	128000	64000	3
14	9700	8280	4,5
15	17000	6060	3,5
18	40000	50000	2
24	2200	3400	2,5
26	45000	80000	3,5
28	56000	80000	3,5
29	33500	17000	2
30	60000	45000	4
31	60000	175000	2
32	70000	128000	2,5
33	1250	4300	5
34	29000	24000	1
37	52000	58000	2,5
40	22500	8100	2,5
41	26000	54000	4
42	6800	7500	4,5
44	6000	26000	4
46	1930	22500	2,5
47	13000	26000	1

Abb. 5

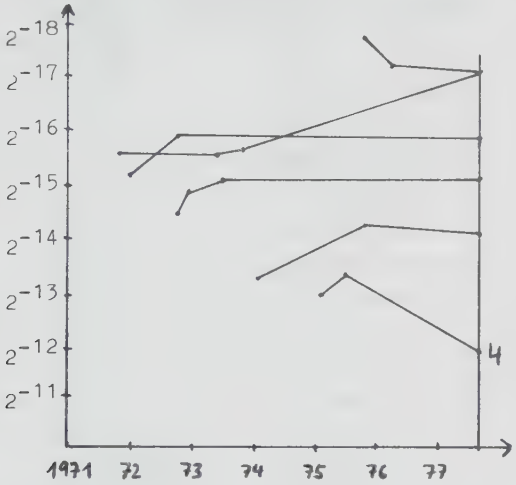
Titerveränderung der einzelnen Proben in Abhängigkeit von der Dauer der HB_sAgämie n=27



Ebenso scheint dies auch für einige niedrigere Titer zuzutreffen. Der steilste Titeranstieg betrug 4 Titerstufen innerhalb eines Zeitraumes von 2,5 Jahren, der steilste Abfall 3 Titerstufen in 3,5 Jahren. Das schließt allerdings einen schnelleren Anstieg bzw. Abfall mit nachfolgender konstanter Phase nicht aus.

In der Abb. 6 wurden für 6 Seren (5 aus der Untergruppe A, 1 aus der Untergruppe B), von denen über einen bestimmten Zeitraum mehrere Proben vorhanden waren, "Verlaufskurven" aufgezeichnet.

Abb. 6
Verlauf des Anti-HB_c-Titers von Spendern, von denen mehrere Serumproben während der Dauer der HB_s-Agämie abgenommen worden waren



In Tabelle 6 ist aufgeführt, wieviele der 32 Seren, bei denen Titer-Vergleiche möglich sind, eine Änderung von mehr als einer Titerstufe zeigen.
Eine Änderung des Titers in dieser Größenordnung wurde als signifikant erachtet, obwohl eine Abweichung von einer Titerstufe bei üblichen Titrationen (geometrische Reihen) aus methodischen Gründen nicht als signifikant erachtet werden kann. Im vorliegenden Fall wurde jedoch der Titer auf bereits beschriebene Weise (s. 6.4) rechnerisch ermittelt. Dadurch waren Titerangaben möglich, die sich nicht auf die bei der Herstellung geometrischer Reihen möglichen Verdünnungsstufen (1:2, 1:4, ...) beschränkten, sondern praktisch stufenlose und damit sehr präzise Angaben erlaubten. Aufgrund dieses Verfahrens erscheint es gerechtfertigt, eine Titeränderung um eine Stufe als signifikant anzunehmen.

Tabelle 6
Titerveränderung in Abhängigkeit von der Höhe des Anti-HB_c-Titers

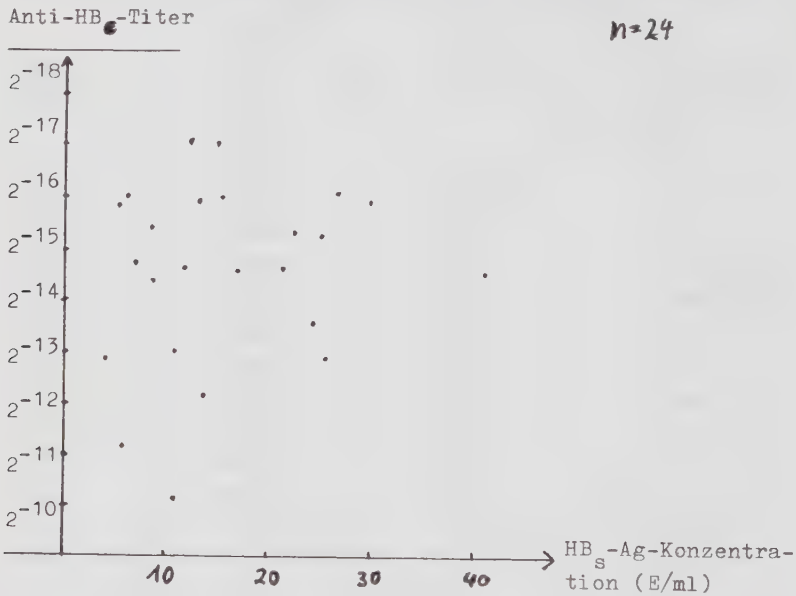
Titer-bereich d. Erstabnahme	Anzahl d. Proben	Zunahme (>1 Titer-stufe) bei	Abnahme (<1 Titer-stufe) bei	gleich-bleibende Titerhöhe bei
I	1	1 (1 Stufe)	-	-
II	2	2 (3 Stufen) (1 Stufe)	-	-
III	3	1 (1 Stufe)	-	2
IV	3	2 (2 Stufen)	-	1
V	2	1 (1 Stufe)	-	1
VI	6	1 (1 Stufe)	2 (1 Stufe) (1 Stufe)	3
VII	11	2 (1 Stufe) (2 Stufen)	1 (1 Stufe)	8
VIII	3	-	1 (1 Stufe)	2
IX	1	-	1 (1 Stufe)	1
	32	11	5	16

Man sieht, daß von den niedrigeren Titern (bis einschließlich Bereich V) 7 von 12 angestiegen sind, keiner jedoch abgefallen ist. Erst oberhalb eines Titers von $1:2^{14}$ halten sich Zu- und Abnahmen die Waage bzw. überwiegen diejenigen, die keine Änderung in der geforderten Größenordnung (1 Titerstufe) zeigen.

Tabelle 7

HB_sAg-Gehalt (E/ml)	Anti-HB_e-Titer
12,5	1:50000
10	1250
13,5	4200
23,7	9700
3,7	7000
26	60000
29,7	56000
4,9	45000
13	128000
22	43000
11,7	24000
24,5	36000
10,4	8100
21	26000
16,8	26000
4,9	2300
7,5	39000
7,5	20000
13,8	58000
5	54000
25	7500
10,8	128000
5,4	26000
40,6	22000

Abb. 7
Anti-HB_c-Titer in Abhängigkeit der HB_sAg-Konzentration



In Tabelle 7 und Abb. 7 wurde versucht, einen möglichen Zusammenhang der HB_sAg-Konzentration und des Anti-HB_c-titers darzustellen. Hierzu wurden die Werte des Anti-HB_c-Titers in Abhängigkeit vom HB_sAg-Gehalt für die einzelnen Seren aufgezeichnet.
Es wurden nur Carrier eingebracht (n = 24);bei 10 Spendern konnte nur die Erstabnahme, bei 5 nur die neue Abnahme ausgewertet werden. Von 9 Seren, bei denen zwei oder mehrere Abnahmen ausgewertet werden konnten, wurden die Werte der neuen Proben eingebracht.

Man sieht, daß die Punkte verstreut und unzusammenhängend liegen; rechnerisch konnte keinerlei Korrelation nachgewiesen werden, d. h., die Höhe des Anti-HB_c-Titers ist unabhängig von der HB_sAg-Konzentration im Serum.

Aus den Ergebnissen der Untergruppe A lassen sich folgende Feststellungen für das untersuchte Kollektiv treffen:

- die überwiegende Zahl der asymptomatischen Virusträger zeigt einen hohen Anti-HB_c-Titer ($\geq 1:2^{14}$)
- das Anti-HB_c kann zumindest 6 Jahre sowohl hochtitrig als auch in niederen Titern persistieren
- nur relativ hohe Titer zeigen einen Titerabfall
- das Anti-HB_c kann auch bei bereits negativ gewordenem HB_sAg und nach Entwicklung von Anti-HB_s hochtitrig persistieren; dies ist beim einzigen jetzt HB_sAg-negativen Serum der Fall
- der Anti-HB_c-Titer ist von der Dauer der HB_s-Antigenämie unabhängig. Bereits zu Beginn bzw. maximal 2 - 3 Monate nach Beginn der HB_s-Antigenämie sind sehr hohe Titer möglich (4 Seren stammen von Spendern, die mehrmals gespendet hatten. Ihre letzte Spende, bei der das HB_sAg für negativ befunden worden war, lag turnusgemäß wahrscheinlich 2 - 3 Monate zurück. Sie befanden sich demnach also im Anfangsstadium der HB_s-Antigenämie, als sie vom Spenden ausgeschlossen wurden.(Zwei zeigen bereits bei der Auswertung der ersten Abnahmen hohe Anti-HB_c-Titer).
- der Anti-HB_c-Titer ist unabhängig von der HB_sAg-Konzentration.

7.1.5.2 Ergebnisse der Untergruppe B

Die Untergruppe B, die sich nach den HB_sAg-Befunden nur zum Teil aus Carriern zusammensetzt, ist im Hinblick auf die Spender, die wahrscheinlich als Folge einer subklinischen Infektion vorübergehend HB_sAg entwickelt hatten, von Interesse. Da die einzelnen Proben recht unterschiedliche Ergebnisse erbrachten, sollen sie im folgenden getrennt betrachtet werden.

- Zwei Spender, die jetzt deutlich HB_sAg-positiv sind, zeigen bereits in der ersten Abnahme mäßig hohe Anti-

HB_c-Titer. Nach 3 Jahren ist der Titer bei einem der beiden bereits wieder abgesunken (von 1:10000 auf 1:3400 s. Nr. 4 in Kurve 2), während er beim anderen weiter stark anstieg (von 1:12000 auf 1:58000). Der Befund der Erstabnahme weist auf einen bei noch niedriger HB_sAg-Konzentration bereits initial hohen Anti-HB_c-Titer hin. - Im vorliegenden Fall wäre dies allerdings auch folgendermaßen erklärbar: Beide Proben zeigen zusätzlich einen schwachen Anti-HB_s-Befund, der auf eine Zweit- bzw. Erstinfektion mit dem anderen Subtyp hinweist. Der hohe Anti-HB_c-Titer bei der ersten Abnahme könnte durchaus auch Folge dieser Erstinfektion sein.

- ein Serum, das jetzt bei negativem HB_sAg ein hohes Anti-HB_s aufweist, zeigt einen niedrigeren Anti-HB_c-Titer (1:40). Es handelt sich in diesem Fall wohl um eine (ein halbes Jahr zurückliegende) subklinische Infektion mit unkompliziertem Verlauf; das Anti-HB_c ist noch positiv.

- zwei weitere Spender, die jetzt HB_sAg-negativ sind, zeigen unterschiedliche Ergebnisse: während bei dem einen das Anti-HB_c einen deutlichen Anstieg im Verlaufe von 3 Jahren zeigt (von 1:10 auf 1:1150), war es bei dem anderen nicht nachweisbar und ist auch jetzt nicht sicher positiv (Titer$<$ 1:10). Beide befanden sich bei der Erstabnahme im Anfangsstadium. Zumindest im ersten Fall scheint eine subklinische Infektion ohne Bildung von Anti-HB_s wahrscheinlich. Das Anti-HB_c wäre in diesem Fall zum Zeitpunkt der Zweitabnahme der einzige Hinweis auf eine Hepatitis-B-Infektion.

- zwei Spender, bei denen das HB_sAg erneut schwach positiv ist, zeigen ebenfalls Unterschiede hinsichtlich des Anti-HB_c. Bei dem einen ist innerhalb von 3 Jahren ein deutlicher Titeranstieg (von 1:20 auf 1:7000) zu erkennen, beim anderen sind beide Male nur sehr schwach positive Werte zu verzeichnen. - Das Anti-HB_c kann also auch bei niedrig persistierendem HB_sAg deutlich ansteigen. Der

Titer liegt jedoch deutlich unter dem der Seren aus der Untergruppe A

- bei den letzten beiden Seren dieser Gruppe, die bereits bei der ersten Kontrolle des HB_sAg negativ waren, kann jetzt weder Anti-HB_s noch Anti-HB_c nachgewiesen werden. Es dürfte sich also wahrscheinlich um Fehlbestimmungen gehandelt haben.

Bei Betrachtung der Ergebnisse beider Untergruppen fällt auf, daß bei dem aus der Untergruppe A HB_sAg-negativ gewordenen Serum das Anti-HB_c einen deutlich höheren Titer zeigt als nach den (vermuteten) subklinischen Infektionen der Untergruppe B. Dies könnte damit erklärt werden, daß es sich um einen negativ gewordenen Carrier handelt; allerdings ist bisher noch nicht gezeigt worden, daß nach längerer Zeit negativ gewordene Carrier auch eine höhere Anti-HB_c-Konzentration aufweisen. Lediglich eine verlängerte Circulation des Anti-HB_c ist beschrieben. Auch bei den subklinischen Infektionen ist das Anti-HB_c 3 Jahre nach einem unkomplizierten Verlauf noch nachweisbar.

Die Frage nach der Abhängigkeit des Anti-HB_c-Titers von der HB_sAg-Konzentration konnte letztlich nicht endgültig beantwortet werden. Einerseits konnte für hohe HB_sAg-Konzentrationen, die in der Laurelltechnik quantitativ gemessen werden können, keine Relation zwischen Anti-HB_c-Titer und HB_sAg-Konzentration festgestellt werden, andererseits ist eine Abhängigkeit des Anti-HB_c-Titers von der HB_sAg-Konzentration beschrieben (38), wobei die HB_sAg-Konzentration allerdings anhand von RIA-Faktoren ermittelt worden war. Da ein in der Laurelltechnik nachweisbares HB_sAg im RIA bereits im Sättigungsbereich liegt, ist anzunehmen, daß es sich in den beschriebenen Fällen (38) wohl um niedrigere Konzentrationen handelte. Der Schluß liegt daher nahe, eine Relation zwischen Anti-HB_c-Titer und HB_sAg-Konzentration für relativ niedrige HB_s-Ag-Konzentrationen anzunehmen. Für diese Annahme spricht auch der deutlich niedrigere Anti-HB_c-Titer der schwach

HB_sAg-positiven (niedrige RIA-Faktoren) Proben der Untergruppe B.

In einem Fall war das Anti-HB_c (Titer 1:1150) der einzige nachweisbare Marker für eine abgelaufene HB-Infektion. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, daß für Anti-HB_c-positives Blut eine erhöhte Infektionsgefahr diskutiert wird, da Anti-HB_c auch bei HB_sAg-negativem Verlauf einer Hepatitis B nachgewiesen werden kann. Die Meinungen gehen in diesem Punkt jedoch auseinander: einige Autoren (61,68) wollen eine erhöhte Gefährdung durch Anti-HB_c-haltiges Blut nicht ausschließen, andere wiederum finden keine Anhaltspunkte für ein erhöhtes Risiko (27,38).

Für Carrier konnte eine mindestens 6jährige Persistenz meist in hohen, in einigen Fällen auch in niederen Titern festgestellt werden, eine Tendenz zum Titerabfall ist auch nach dieser Zeit nicht vorhanden. Das Anti-HB_c scheint in diesen Fällen sehr schnell (innerhalb von 2 Monaten) auf hohe Titer ansteigen zu können; desgleichen ist jedoch auch ein langsamer Anstieg nicht auszuschließen.

7.1.6 e-Ag / Anti-e

Das e-Ag wird bei den asymptomatischen Virusträgern mit auffälliger Histologie häufig gefunden (54,85), bei CAH-Patienten häufiger als bei CPH (26,30,90). Bei gesunden Carriern soll es hingegen nicht vorkommen (16,113). Die Anti-HB_c-Titer sind bei den e-Ag-positiven Formen im Durchschnitt höher, wenn die Schwankungsbreite auch sehr hoch ist und sogar e-Ag-positive Seren mit negativem Anti-HB_c vorkommen sollen (63). - In Anti-e-haltigen Seren liegt der Anti-HB_c-Titer im Schnitt niedriger, erreicht jedoch auch sehr hohe Werte. Freie Dane-Partikel sollen in Anti-e-haltigen Seren nicht vorkommen, die Transamina-

sen sind meist nicht erhöht (30,56). Auch der HB_s-Ag-Titer liegt im Schnitt niedriger als bei den e-Ag-positiven.
Histologisch sind die Anti-e-Träger meist gesund, jedoch haben auch Patienten mit CPH und HB_sAg-positivem primärem Leberkarcinom Anti-e im Serum (26), in seltenen Fällen soll es auch bei CAH auftreten; am häufigsten, bis zu 100%, ist es bei gesunden Carriern zu finden (112). Dies konnte hier bestätigt werden.
In der Untergruppe A findet sich bei 75% der Spender Anti-e, wohingegen kein Serum e-Ag-positiv ist.

Vergleichsmöglichkeiten zwischen den jetzt abgenommenen Seren und den früheren Abnahmen der Untergruppe A waren dadurch gegeben, daß 35 Seren bereits früher in der Immundiffusion getestet und titriert worden waren. 21 (60%) der vorgetesteten Seren waren positiv. Im Radioimmunassay sind jetzt 26 von 35 anti-e-positiv, d.h., auch das Anti-e kann bei Carriern über einen Zeitraum von mindestens 6 Jahren persistieren. Zusätzlich sind von den restlichen 5 zur Gruppe A gehörenden Seren 4 weitere positiv, - 4 Seren sind seit dem ersten in der Immundiffusion positiven Befund im Laufe von 6 bzw. 2 Jahren trotz persistierendem HB_sAg und Anti-HB_c Anti-e-negativ geworden.
Alle 4 wiesen in der Immundiffusion niedrige Titer auf (in 3 Fällen 1:1, in 1 Fall 1:4 bei einem durchschnittlichen Titer von 1:5).

In der Untergruppe B sind im RIA nur 2 Anti-e-positive Seren zu finden (frühere Ergebnisse in der Immundiffusion lagen nicht vor). Es handelt sich dabei einmal um eines der beiden Seren, die jetzt einen deutlichen HB_sAg-Befund bei hohem Anti-HB_c-Titer zeigen, das andere Mal um das Serum, das jetzt bei negativem HB_sAg einen hohen Anti-HB_s-Gehalt und einen niedrigen Anti-HB_c-Titer (1:40) aufweist. Im ersten Fall handelt es sich um einen Carrier, im zweiten vermutlich um eine subklinische Infektion mit unkompliziertem Verlauf. Ein halbes Jahr nach dieser Infek-

tion ist jetzt Anti-e nachweisbar, d.h., nach dem Ende der HB_s-Antigenämie ist bei Entwicklung von Anti-HB_s und persistierendem Anti-HB_c auch Anti-e vorhanden. Dies entspricht dem normalen Verlauf einer unkomplizierten HB-Infektion.
Ohne gleichzeitigen Nachweis von HB_sAg oder Anti-HB_s konnte das Anti-e hier nicht gefunden werden, obwohl dies nicht ungewöhnlich wäre. In der Zeitspanne nach dem Ende der HB_s-Antigenämie bis zum Auftreten des Anti-HB_s kann nämlich ausschließlich Anti-HB_c und Anti-e nachgewiesen werden (26,56).

Ein möglicher Zusammenhang der HB_sAg-Konzentration mit dem Anti-e ist nach vorliegenden Ergebnissen nicht auszuschließen. Von den insgesamt 16 Seren, bei denen das Ergebnis der Laurelltechnik ausgewertet werden konnte, und das Anti-e im RIA bestimmt wurde, waren 2 Anti-e-negativ. Es handelt sich bei diesen um die Seren mit den höchsten HB_sAg-Konzentrationen (40,6 und 25 ug/ml). Dieses Ergebnis könnte auf eine entsprechende Korrelation hinweisen, es widerspricht jedenfalls nicht der in der Literatur vertretenen Auffassung, daß Anti-e-haltige Seren häufiger mit niedrigeren HB_sAg-Titern einhergehen(19,87).

Die eAg- bzw. Anti-e-Befunde sind einmal im Hinblick auf eine mögliche Leberschädigung der untersuchten Spender, zum anderen im Zusammenhang mit der Frage nach der Infektiosität der Seren von Bedeutung.

Beim hier untersuchten Kontingent handelt es sich um anläßlich einer Routineuntersuchung entdeckte asymptomatische Virusträger mit leerer Anamnese; es war also eine subklinische Infektion vorausgegangen, die im allgemeinen mit geringeren nepatocellulären Schädigungen einhergeht. - Zur Abklärung einer fraglichen Leberschädigung (eine histologische Untersuchung wurde ausgeschlossen) wurden klinisch-chemische Parameter, in diesem Fall die Transami-

nasenwerte, herangezogen. Leider war dies nicht immer möglich, da viele Seren in hämolytischem oder lipämischen Zustand eingesandt wurden und somit eine photometrische Messung ausschlossen. In 23 von 25 Fällen, in denen die Transaminasen überprüft werden konnten, zeigten sie normale Werte. - Der Anti-HB_c-Titer, der bei CAH und CPH signifikant höher liegt als bei gesunden Carriern (54) und somit ebenfalls bei der Abklärung einer fraglichen Leberschädigung herangezogen werden könnte, gibt hier keine näheren Aufschlüsse, da Vergleiche mit sicher chronisch kranken Patienten fehlen (die Spender mit den höchsten Anti-HB_c-Titern dieses Kollektivs zeigten normale Transaminasen.)

Die hohe Anti-e-Frequenz, das in allen Fällen negative e-Ag und die in 92% der überprüfbaren Serumproben normalen Transaminasen sprechen für eine nicht geschädigte Leber bei einem großen Teil der untersuchten Carrier. Allerdings kann auch bei positivem Anti-e und normalen Transaminasen eine Leberschädigung nicht endgültig ausgeschlossen werden.
Die zweite Frage im Zusammenhang mit den e-Ag/anti-e-Befunden, das Problem der Infektiosität der Carrier, ist ebenfalls noch nicht vollständig geklärt. Eine erhöhte Infektiosität e-Ag-positiver Personen wird jedoch kaum mehr bezweifelt (103).

Auch für das Anti-e wird eine entsprechende Rolle diskutiert; es soll einen Marker für die weitgehende Nichtinfektiosität eines Serums darstellen. Für gesunde Carrier würde das bedeuten, daß nicht nur alle potentiellen Parameter der Infektiosität, nämlich e-Ag, DNA-Polymerase und Dane-Partikel im Serum fehlen würden, sondern mit dem Anti-e ein Faktor mit eventuell gegenteiliger Wirkung vorhanden wäre. Daraus würde folgen, daß 75% der Carrier im hier untersuchten Kollektiv mit einiger Wahrscheinlichkeit nicht infektiös wären. Damit wäre eine

Rehabilitierung dieser Spender zu überdenken. Eine derartige Maßnahme würde jedoch detaillierte Untersuchungen in größerem Rahmen erfordern, die zuverlässige Ergebnisse bringen. Im übrigen ist der Anteil der HB_sAg-Carrier am Spenderaufkommen so gering, daß der Erfolg eines solchen Vorgehens den Aufwand in keiner Weise rechtfertigen würde.

7.2 Ergebnisse der Gruppe 2

7.2.1 Transaminasen

Leider befanden sich auch in diesem Kollektiv viele Seren in hämolytischem oder lipämischen Zustand; einige weitere konnten wegen der sehr geringen Menge vorhandenen Probenmaterials, das für die Durchführung der Radioimmunassays verbraucht wurde, nicht untersucht werden. Von 85 vorhandenen Seren konnten letztlich nur 58 photometrisch getestet werden. Von diesen 58 hatten

26 (44,8%) normale Werte
24 (41,4%) leicht erhöhte Werte (GPT > 20 U < 40 U)
8 (13,8%) stärker erhöhte Werte (GPT > 40 U)

Dieses Ergebnis zeigt, daß sich die Transaminasen in fast der Hälfte der Fälle seit der letzten Untersuchung normalisiert haben. Das legt die Frage nach einer möglichen Rehabilitierung dieser Personen als Blutspender nahe, insbesondere dann, wenn sie, wie in den vorliegenden Fällen, auf HBV-Marker (HB_sAg, Anti-HB_s, Anti-HB_c, Anti-e und eAg) untersucht und, wie in 84% (22 von 26) der Fälle mit normalisierten Transaminasen, für negativ befunden wurden. -
Eine Rehabilitierung wäre auch zu überdenken, weil eine einmalig festgestellte Transaminasenerhöhung, die zum Ausschluß vom Spenden führte, vielerlei Gründe haben konnte, die in Hinsicht auf die Übertragung von Infektionskrankheiten keine Bedeutung haben.

Eine Wiederzulassung dieser Blutspender verbietet sich jedoch gegenwärtig, da sich während der letzten Jahre die

Hinweise mehren, daß ein Zusammenhang der erhöhten Transaminasen mit einer Non-A-non-B-Hepatitis in Betracht zu ziehen ist.
Zur Erkennung dieser Form, bzw. Formen, der Hepatitis gibt es noch keine spezifischen Untersuchungsparameter. Die erhöhten Transaminasen sind der einzige, wenn auch sehr unspezifische Hinweis auf eine erfolgte Leberzellschädigung.

7.2.2 HB_sAg

Alle Seren (n= 85) waren bereits bei früheren Routineuntersuchungen getestet und für negativ befunden worden. Im Gegensatz dazu sind jetzt 4 (4,7%) schwach positiv (die Werte liegen an der unteren Grenze der Nachweisbarkeit im RIA). Möglicherweise erfolgte seit der letzten Untersuchung eine subklinische Infektion mit persistierendem HB_sAg. Die früher festgestellten erhöhten Transaminasen stehen jedoch sehr wahrscheinlich nicht im Zusammenhang mit dem jetzt festgestellten HB_sAg-Befund. Dies würde nämlich bedeuten, daß bei HB_sAg-positivem Verlauf der HBV-Infektion die Transaminasen zu einem Zeitpunkt im Serum erhöht gewesen wären, als das HB_s-Ag noch nicht nachweisbar war. Eine solche Konstellation ist jedoch kaum möglich.
Die Transaminasen liegen jetzt bei 3 der 4 HB_sAg-positiven Spender im Normbereich.

7.2.3 Anti-HB_s

Von 85 getesteten Personen sind 3 (3,5%) im RIA positiv. Auch hier liegen die RIA-Faktoren relativ niedrig.
Bei 2 dieser Spender konnten die Transaminasen nicht getestet werden, beim 3. lagen sie im Normbereich.
Für alle 3 ermittelten Anti-HB_s-Träger ist ein Zusammenhang mit den bei der Erstuntersuchung erhöhten Transaminasen nicht sehr wahrscheinlich, da es sich um Mehrfachspender handelt, die vor Ausschluß vom Spenden in ein- bis zweimonatigen Abständen auf HB_sAg untersucht wurden.

Eine möglicherweise zum Zeitpunkt der Feststellung erhöhter Transaminasen ablaufende subklinische HB-Infektion wäre also wahrscheinlich nicht unentdeckt geblieben. Möglich wäre allerdings eine zum Zeitpunkt der erhöhten Transaminasen ablaufende subklinische HB-Infektion ohne Entwicklung von HB_sAg. Ein solcher Verlauf findet sich bei 3% aller HB-Fälle (38; andere Untersuchungen sprechen von höheren Werten (60). Ein Zusammenhang der erhöhten Transaminasen mit einer HBV-Infektion kann also nicht ausgeschlossen werden.

7.2.4 Anti-HB_c

Ausgewertet wurden 46 Serumproben. Von diesen sind 3 (6,5%) im RIA positiv. Anti-HB_c ist in diesen Fällen der einzig nachweisbare HBV-Marker; die Transaminasen sind in 2 der 3 Fälle erhöht.
Dieser Befund ist folgendermaßen erklärbar: entweder handelt es sich in den genannten Fällen um Stadien relativ kurze Zeit nach subklinischen Infektionen (klinisch manifeste Infektionen durch Anamnese ausgeschlossen), in denen nach Klärung des HB_sAg noch kein Anti-HB_s entwickelt wurde bzw. um Personen, bei denen überhaupt kein Anti-HB_s auftritt ("diagnostische Lücke") oder, da Anti-HB_c u. U. länger als Anti-HB_s und Anti-e persistiert, um Folgezustände einer länger zurückliegenden HB-Infektion.
Die erhöhten Transaminasenwerte könnten folglich mit einer HB-Infektion in Zusammenhang gebracht werden. Da es sich jedoch auch in diesen Fällen um Mehrfachspender handelt, die wahrscheinlich auf HB_sAg überwacht waren, müßten auch hier Verläufe ohne Entwicklung von HB_sAg angenommen werden.

7.2.5 e-Ag

Bisher war e-Ag nur in Verbindung mit HB_sAg gefunden worden. Man ging davon aus, daß allenfalls mit neuen empfindlichen Methoden (RIA) e-Ag auch ohne HB_sAg nachgewiesen

werden könne. Die Wahrscheinlichkeit einer solchen Konstellation wurde jedoch nicht sehr hoch eingeschätzt. Neuerdings wurde nun von einigen Fällen berichtet (110), in denen eAg in der Immundiffusionstechnik ohne gleichzeitig nachweisbares HB_sAg gefunden wurde, was den Autor zu der Schlußfolgerung veranlaßt, HB_sAg und eAg seien hinsichtlich Produktion und Eliminierung unabhängig voneinander.
Inwieweit diese These bestätigt werden wird, muß dahingestellt bleiben; unter den 81 HB_sAg-negativen Spendern der Gruppe II konnte jedenfalls im RIA kein derartiger Fall gefunden werden, auch nicht unter den Anti-HB_s-, bzw. Anti-HB_c-positiven Fällen dieser Gruppe. Auch die 4 HB_sAg-positiven Serumproben waren eAg-negativ.

7.2.6 Anti-e

Von den 85 Seren dieser Gruppe erwiesen sich 5 als positiv, 3 waren gleichzeitig HB_sAg- und 1 Anti-HB_s-positiv. Ein Auftreten des Anti-e ausschließlich zusammen mit dem Anti-HB_c konnte auch in dieser Gruppe nicht nachgewiesen werden. Das 5. Anti-e-positive Serum, das weder HB_sAg- noch Anti-HB_s-positiv ist, konnte im Anti-HB_c-Test nicht ausgewertet werden. In diesem Fall ist also die Konstellation (ausschließlich Anti-HB_c und Anti-e) nicht auszuschließen. Die Transaminasen waren nur in einem Fall mit positivem Anti-e erhöht; hier war auch das HB_sAg positiv. Das Anti-HB_c konnte in keinem Fall mit positivem Anti-e ermittelt werden.

7.2.7 HBV-Marker-Frequenz

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse fällt zunächst der relativ hohe HB_sAg-Anteil von 4,7% auf. Ein Zusammenhang des jetzt festgestellten HB_sAg mit den früher festgestellten erhöhten Transaminasen ist allerdings nahezu ausgeschlossen (s. 7.2.2). Allenfalls könnte aufgrund dieses Ergebnisses eine höhere Anfälligkeit von Personen

mit erhöhten Transaminasen für eine Hepatitis-B-Infektion in Betracht gezogen werden. Eine derartige Folgerung würde jedoch, bedingt durch die relativ kleine Probenanzahl, eine zu weitgehende Interpretation bedeuten.

Die Anti-HB_s- und die Anti-HB_c-Frequenz, die als Durchseuchungsmarker für HBV-Infektionen angesehen werden können, konnten mit den Ergebnissen von 2942 HB_sAg-negativen Blutspendern, die in der Blutzentrale in Tübingen untersucht worden waren, verglichen werden.

Dabei wurde für das Anti-HB_c in der Gruppe der HB_sAg-negativen Personen mit erhöhten Transaminasen mit einer Frequenz von 6,5% gegenüber 5,8% in der Vergleichsgruppe ein unwesentlich höherer Anteil, für das Anti-HB_s mit 3,6% gegenüber 5,6% ein niedererer Anteil ermittelt. Eine erhöhte HBV-Durchseuchungsrate von Personen mit erhöhten Transaminasen ist aufgrund dieser Ergebnisse auszuschließen.

8 Zusammenfassung

Von 49 wegen eines positiven HB_sAg-Befundes registrierten Blutspendern erwiesen sich 43 als asymptomatische Virusträger.

Das Durchschnittsalter betrug 32 Jahre, vorwiegend waren Männer betroffen. In allen Fällen war das Anti-HB_c nachweisbar, meist in hohen Titern, in 75% das Anti-e und in keinem Fall konnte ein positives e-Ag gefunden werden. Für Anti-HB_c und Anti-e konnte in einigen Fällen eine sechsjährige Persistenz festgestellt werden. HB_sAg und Anti-HB_c können, sowohl in hohen als auch in niederen Titern, persistieren. Die Titerhöhe des Anti-HB_c ist jedoch weitgehend unabhängig vom HB_sAg-Gehalt des Serums. HB_sAg-Konzentration und Anti-HB_c-Titer ändern sich im Laufe der Zeit wenig; dies ist möglicherweise ein Hinweis auf eine lebenslange HB_sAg-Persistenz bei chronischen Carriern.

Sechs Carrierseren enthalten zusätzlich Anti-HB_s eines Subtyps, der vom Subtyp ihres HB_sAg's versschieden ist, ein Indiz für eine zweimalige Infizierung dieser Personen.

Von 85 Spendern, die wegen erhöhter Transaminasen vom Spenden ausgeschlossen worden waren, zeigen jetzt 4 einen positiven HB_sAg-Befund.
Dies ist ein ungewöhnlich hoher Anteil HB_sAg-positiver Personen. Ein ursächlicher Zusammenhang mit der Monate bis Jahre zurückliegenden Transaminasenerhöhung ist aber nicht anzunehmen.

Eine erhöhte HBV-Durchseuchung der HB_sAg-negativen Spender mit erhöhten Transaminasen, gemessen an der Anti-HB_s- und Anti-HB_c-Frequenz konnte nicht festgestellt werden.

Von 26 Spendern, bei denen die Transaminasen jetzt im Normbereich liegen, könnten 20 im Hinblick auf eine Hepatitis B als Spender rehabilitiert werden. Dies verbietet sich jedoch zum gegenwärtigen Zeitpunkt, da ein Zusammenhang der erhöhten Transaminasen mit einer Non-A-non-B-Hepatitis nicht ausgeschlossen werden kann. Die restlichen 6 müssen ohnehin aufgrund anderer serologischer bzw. anamnestischer Hinweise ausgeschlossen bleiben.

Literatur

1 Alexander, J. J. et al.: Antibody to Hepatitis B Surface Antigen ist not cytotoxic to antigen-secreting Hepatocytes. S. Afr. Med. J. 54 (23), 973-974 (1978)

2 Almeida, J. D, Waterson, A. P.: Hepatitis B Antigen- an incomplete history. A. J. med. Scs., 270, 105-114 (1975)

3 Alter, H. J.: Hepatitis B Surface Antigen and the Health Care Professions. In: Transmissible Disease and Blood Transfusion (Greenwalt, T. J., Jamieson, G. A., Hrsgb.) 67-81, Grune and Stratton, New York 1975

4 Alter, H. J., Holland, P. V., Morrow, A. G., Purcell, R. H., Feinstone, S. M. : Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. LANCET 2, 838-841 (1975)

5 Alter, H. J. et al.: Type B Hepatitis: The Infectivity of Blood Positive für e Antigen and DNA-Polymerase after Accidental Needlestick Exposure. N. Engl. J. Med. 295, 909-913 (1976)

6 Arnold, W. et al.:Anti-HB_c, HB_eAg and DNA-Polymerase activity in healthy HB_sAg-Carriers and patients with inflammatory lever diseases. Klin. Wschr. 56 (6), 297-303 (1978)

7 Barr, A. et al.: Hepatitis B e antigen and antibody in hepatitis B surface antigen positive blood donors. J. clin. Pathol. 32 (2), 132-135 (1979)

8 Beeson, P. B.: Jaundice occuring one to four months after transfusion of blood or plasma. JAMA 121, 1332-1334 (1943)

9 Berg, P. A.; Immunologie der Virushepatitis und ihrer Folgezustände. Verh. d. dtsch. Ges. f. Inn. Med. Bd. 2 S. 74-87 (1977)

10 Bianchi, L., Gudat, F. : Hepatitis-B-Antigenkomponenten im Lebergewebe in Korrelation zu spezifischen Blutparametern und Hepatitisformen. Verh. d. dtsch.Ges. f. Inn. Med. ~~Bd.~~, S. 87-93 (1977)

11 Bianchi, L.: Hepatitis B - ein Blick in die Werkstatt des Morphologen. Hepatologie aktuell 14, Falk-Foundation, Freiburg (1977)

12 Blumberg, B. S.,Alter, H. J.,Visnich, S.: A new antigen in leucemia sera, JAMA 191, 541 (1965)

13 Blumberg, B. S.: Viral Hepatitis. Modes of Transmission and role of the carrier. In: Transmissible disease and blood transfusion. (Greenwalt, T. J.,Jamieson, G. A., Hrsgb.) S. 67-81, Grune and Stratton, New York 1975

14 Bories, P. et al.: Antibody to hepatitis B core antigen in chronic active hepatitis. Br. med. J. 1, 396-397 (1978)

15 Brodersen, M.: HB_s-Antigen. Klinische Bedeutung. Verh. d. dtsch. Ges. f. Inn. Med. Bd. 2, 64-74 (1977)

16 Cappel, R. et al. : e Antigen and antibody, DNA-polymerase and inhibitors of DNA polymerase in acute and chronic Hepatitis. J. Infect. Dis. 136 (5), 617-622 (1977)

17 Cohen, B.: The IgM antibody responses to the core antigen of hepatitis B virus. J. med. Virol. 3 (2), 141-149 (1978)

18 Combridge, B. S.: Anti Hepatitis B Immunglobulin for clinical use. Vox Sang 33 (6), 321-323 (1978)

19 Courouc'e-Pauty, Plan'Con: e Antigen and anti-e in two categories of chronic carriers of hepatitis B surface antigen. Vox Sang 34 (4), 231-238 (1978)

20 Creutzfeldt, W., Matthes, M., Schmitt, H., Beck, K. : Zur Häufigkeit und Verhütung der Transfusionshepatitis. In: Beiträge zur Inneren Medizin (Keiderling, W., Hrsgb.) 617-630, Schattauer, Stuttgart (1964)

21 Dane, D. S., Cameron, C. H., Briggs, M.: Virus like particles in serum of patients with Australia antigen associated hepatitis. LANCET 1, 695 (1970)

22 Deinhardt, F., Holmes, A. W., Copps, R. B. et al.: Studies on the transmission of human viral hepatitis to marmoset monkeys. I. Transmission of disease, serial passages, and description of liver lesions. J. Exp. Med. 125, 673 (1966)

23 Deinhardt, F., Frösner, G. G.: Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet der Virushepatitis, Internist 18, 188-194 (1977)

24 Deinhardt, F. : Virologie der menschlichen Hepatitis. Verh. d. dtsch. Ges. f. Inn. Med. Bd. 2, 30-43 (1977)

25 Dreesmann, G. R. et al.: Biophysical and biochemical properties of purifiedpräparations of hepatitis B surface antigen. A. J. med. Scs. 270, 123-129 (1975)

26 Eleftheriou, M. et al. :Incidence and clinical significance of e antigen and antibody in acute and chronic liver disease. LANCET 2, 1170 (1975)

27 Endo, et al: Anti-HB_c im Rahmen der Hepatitis-B-Virus-Infektion: Korrelationen zu Entzündungsform und Virusexpression. Schw. med. Wsch. 108 (10), 363-373 (1978)

28 Fay, O. et al: The e antigen as index of chronic Hepatitis B virus infection. Gastroenterology 68, 1081 (1975)

29 Fay, O. et al.: Prognostic implications of the e antigen of hepatitis B virus. JAMA 238 (23), 2501-2503 (1978).

30 Feinmann, S. V. et al.: e Antigen and anti-e in HB_sAg-Carriers. LANCET 2, 1173-1174 (1975)

31 Feinstone, S. M., Kapikian, A. Z., Purcell, R. H.: Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a virus-like antigen associated with acute illness. Science 128, 1026 (1973)

32 Fiedler, H.: Hepatitis "non-A-non-B" in Nordwestdeutschland. Diagnostik 9, 545-547 (1976)

33 Findlay, G. M., MacCallum, F. O.: Hepatitis and jaundice associated with immunization against certain virus diseases. Proc. R. Soc. Med. 31, 799-805 (1938)

34 Frösner, G. G., Sugg, U., Schneider, W., Gerth, H.J. : Hepatitis-B-Antikörper bei Blutspendern im südwestdeutschen Raum. Münch. med. Wschr. 117, 81-82 (1975)

35 Frösner, G. G., Sugg, U, Schneider, W.: Half Life of Transfused Anti-HB_s. Develop. Biol. Standard 30, 316-319 (1975)

36 Frösner, G., Zuckermann, A. : Hepatitis B: Epidemiologie und Stand der Prävention. Verh. d. dtsch. Ges. f. Inn. Med.,51-63 (1977).

37 Frösner, G. G. et al.: Detection of HB_eAg and anti-HB_e in acute hepatitis B by asensitive Radioimmunassay. J. med. Virol. 3, 67-76 (1978)

38 Frösner, G. G., Bameaski, M., Brodersen, M., Scheid, R., Abb, I., Weiß, M., Deinhardt, F. : Die Bedeutung von Anti-HB_c für die Diagnostik der akuten und chronischen Hepatitis-B-Infektion. Medizintechnik 98, 130-135(1978)

39 Frösner, G. G., Sugg, U., Peterson, D. A., Deinhardt, F. W.: Rheophorese zur Subtypenbestimmung des Hepatitis-B-Antigens bei Blutspendern. Forschungsergeb. d. Transfusionsmedizin u. Immunhämatologie Bd. 2, 679-686 (1978)

40 Frösner, G. G., Weiss, U., Scheid, R., Deinhardt, F., Gathof, G. A., Bäcker, U., Gossrau, E., Bär, A.: Häufigkeit von Hepatitis-A- und B-Markern bei bayerischen Blutspendern. Münch. Med. Wschr. 122, 231-233 (1980)

41 Gerin, J. L.: The Dane-Particle in Type B Hepatitis. In: Transmissible Disease and Blood Transfusion (Greenwalt, T. J., Jamieson, G. A., Hrsgb.) Grune and Stratton, New York(1975)

42 Gerin, J. L., Shih, J., Kaplan, P.M.: Biophysical and biochemical characterisation of hepatitis B antigen. A. J. med. Scs. 270, 115-121 (1975)

43 Gerlich, W. et al.: The diagnostical significance of antibodies against hepatitisBcore antigen. Klin. Wschr. 55 (21), 1051-1056 (1977)

44 Gerlich, W. : Quantitative Immunelektrophorese nach Laurell zum Nachweis von HB_sAg. Persönliche Mitteilung.

45 Gerlich, W. H., Luer, W., Thomsen, R. : Diagnosis of acute and inapparent hepatitis B virus infections by measurement of IgM antibody to hepatitis B core antigen. J. Infect. Dis. 142, 95-101 (1980)

46 Gibson, P.: E antigen and antibody in outbreaks of hepatitis B in two renal dialysis units. J. clin. Pathol. 30 (8), 717-719 (1978)

47 Giles, I. P.,Mc Collum, R. W. et al.: Viral hepatitis Relation of Australia/SH antigen to the Willow-brook MS-2 strain. N. Engl. J. Med. 281, 119 (1969)

48 Goldfield, M. et al.: The consequence of administering blood pretested for HB_sAg by third generation techniques: a Progress report. A. J. med. Scs. 270, 335-342 (1975)

49 Grady, G.F., Lee, V. A. : Hepatitis Bimmune globulin, prevention of hepatitis from accidental exposure among medical personnel. N. Engl. J. Med. 293, 1067-1070 (1975)

50 Gust, I. et al.: The prevalence of HB_sAg and Anti-HB_e in an institution for the mentally retarded. Aust. Nz. J. Med. 8(5), 471-473 (1978)

51 Havens, W. P. Jr., Ward, R., Drill, V. A., Paul, J. R.: Experimental production of hepatitis by feeding icterogenic materials. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57, 206 (1944)

52 Heistö, H., Iulsrud, A.:Silent carriers of hepatitis virus B. J. Acta Med. Scand. 164, 349 (1959)

53 Hess, G., et al.: Simultaneous Presence of HB_sAg and Anti-HB_s in the Serum of different Subtypes. Z. Immun-Forsch. 153, 143-151 (1977)

54 Hess, G., et al.: Anti-HB_c-Titers in HB_eAg and Anti-HB_e-positive Asymptomatic HB_sAg-Carriers. Z. Immun-Forsch. 154, 208-217 (1978)

55 Hess, G., Arnold, W., Mayer zum Büschenfelde, K. H.: Comparison of indicators for dane particles. Klin. Wschr. 58, 371-376 (1980)

56 Hindman, S. H., et al.: E Antigen, Dane Particles and Serum DNA Polymerase Activity in HB_sAg-Carriers. Ann. intern. Med. 85, 458 (1976)

57 Hirschmann, S. Z., et al.: Observations on the core particle of hepatitis B virus and the DNA polymerase associated with hepatitis B antigen. A. J. med. Scs. 270, 141-148 (1975)

58 Hollinger, F. B., et al.: HB_cAg, anti-HB_c, and DNA polymerase activity in transfused recipients followed prospectively. A. J. med. Scs. 270, 343-348 (1975)

59 Hoofnagle, J. H., Gerety, R. J., Lewellys, F. B. : Antibody to Hepatitis B Core Antigen. In: Transmissible disease and blood transfusion (Greenwalt, T. J., Jamieson, G. A., Hrsgb.) S. 43-57, Grune and Stratton, New York (1975)

60 Hoofnagle, J. H., et al.: Antibody to hepatitis B core antigen. A. J. med. Scs. 270, 179-187 (1975)

61 Hoofnagle, J. H., et al.: Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. N. Engl. J. Med. 298 (15), 1379-1383 (1978)

62 Huang, S.; Structural and immunoreactive characteristics of hepatitis B core antigen. A. J. med. Scs. 270, 131-139 (1975)

63 Imai, M., et al.: Hepatitis B Antigen-associated Desoxyribonucleic Acid Polymerase Activity and e Antigen/Anti-e System. Infect. Immun. 14, 631 (1976)

64 Janzen, J., et al.: Epidemiology of Hepatitis B Surface Antigen and Antibody to HB_sAg in Hospital Personnel. J. Infect. Dis. 137 (3), 261-265 (1978)

65 Kleinknecht, D., et al.: Prevention of Hepatitis B in hemodialysis patients using Hepatitis B Immunglobulin. A controlled Study. Clin. Nephrol. 8 (3), 373-376 (1977)

66 Knodell, C. Conrad, Dienstag, Bell: Etiological Spectrum of Posttransfusion Hepatitis. Gastroenterology 69, 1278-1285 (1975)

67 Krugman, S.: Viral Hepatitis: Recent developments and prospects for prevention. J. Pediatr. 87, 1067 (1975)

68 Lander, J. J., et al.: Anti-core antibody screening of transfused blood. Vox Sang 34 (2), 77-80 (1978)

69 Lewellys, F. B. et al.: Viral Hepatitis Type B: Detection and prophylaxis. In: Transmissible disease and blood transfusion (Greenwalt, T. J., Jamieson, G. A., Hrsgb.) S. 81-112, Grune and Stratton, New York (1975)

70 Ling, C. M., Overby, L. R.: Prevalence of hepatitis B virus antigen as revealed by direct radioimmune-assay with ^{125}J antibody. J. Immunol. 109, 834 (1972)

71 Lurman, A.: Eine Icterusepidemie. Klin. Wschr. 22, 20 (1885)

72 MacCallum, F. O., Bradley, W. H.; Transmission of infectious hepatitis to human volunteers. LANCET 2, 228 (1944)

73 Magnius, L. O., Espmark, J.A.: New specifities in Australia antigen positive sera distinct from the Le Bouvier determinants. J. Immunol. 109,1017 (1972)

74 Magnius, L. O.: Characterization of a new antigen-antibody system associated with hepatitis B. Clin. Exp. Immunol. 20, 209-216 (1975)

75 Magnius, L. O., et al.: A new Antigen-Antibody System. JAMA 231, 356-359 (1975)

76 Marchesini, G., et al.: Rapid clearence of HBe Antigen and development of anti-HBe antibody in acute viral hepatitis. Ric. Clin. Lab. 8, 134-139 (1978)

77 Maynard, J. E.: Passive Immunization against hepatitis B: A Review of recent Studies and Comment on current aspects of control. Am. J. Epidemiol. 107, 77-86 (1978)

78 Mazzur, S., Burgert, S., Blumberg, B. S. : Geographical Distributaion of Australia Antigen Determinants d, y and w. Nature 247, 38-40 (1974)

79 Mcmillan, B. C., et al.: Hepatitis B Surface Antigen and Antibody: Prevalence Persistence in institutionalized and noninstitutionalized Person. Public. Health Rep. 94 (3) 262-267 (1979)

80 Meyer zum Büschenfelde: Chronische Hepatitis. Verh. d. dtsch. Ges. f. Inn. Med., 133-141 (1977)

81 Moraczeska, Z., et al.: Simultaneous presence in serum of HB_sAg and Anti-HB_s of different specifities. Intervirol 9 (3), 189-192 (1978)

82 Mosley, J. W., The epidemiology of viral hepatitis: an overview. A. J. med. Scs. 270, 253-270 (1975)

83 Mosley, I. W., Redeker, A.G., Feinstone, S.H., Purcell, R. H.: Multiple hepatitis viruses in multiple attacks of acute virus hepatitis. N.Engl.J. Med. 296, 75-78 (1977)

84 Mueller, R. et al.: An Epidemiological Study about Viral Hepatitis in the Region of Hannover. 2. Correlation between the Incidence of Viral Hepatitis B and Blood Transfusion. In: Transmissible Disease and Blood Transfusion (Greenwalt, T.J., Jamieson G. A., Hersgb.) S. 57-63, Grune and Stratton, New York 1975

85 Musnahwar, I et al.: Prevalence of Hepatitis B e Antigen and its Antibody as detected by Radioimmunassays. J. Med. Virol 2 (2), 77-87 (1978)

86 Nakkamura, S. et al.: Hepatitis B antigens and antibodys in asymptomatic carriers and in chronic liver diseases. Tohoku J. Med. 128 (1), 81-87 (1979)

87 Nath, N. et al.: Relationship of subtypes of hepatitis B surface antigen with e antigen and its correspondig antibody. J. Infect. Dis. 138 (2), 252-256 (1978)

88 Neurath, A. R. et al.: Identification of Additional Antigenic Sites on Dane Particles an the Tubular Forms of Hepatitis B Surface Antigen. J. gen. Virol 30, 277-285 (1976)

89 Neurath, A. R. et al.: Radioimmunassay an some properties of human antibodies to hepatitis B core antigen. J. gen. Virol 38 (3), 549-559 (1978)

90 Nielsen, J. O., Dietrichson, O., Junl, E.: Incidence and meaning of the determinant among hepatitis B antigen positive patients with acute and chronic liver diseases. LANCET 2, 913-915 (1974)

91 Nordenfelt, E., Kjellen, L.: Dane Particles, DNA-Polymerase, and e-Antigen in Two Different Categories of Hepatitis B Antigen Carriers. Intervirology 5, 225-232 (1975)

92 Nordenfelt, E., Andren-Sandberg, M.: Dane Particle associated DNA-Polymerase and e Antigen: Relation to Chronic Hepatitis among Carriers of Hepatitis B Surface Antigen. J. Infect. Dis. 134, 85 (1976)

93 Paul, J. R., Havens, W. P. J., Savin, A. B., Philip, C. B.: Transmission experiments in sreum jaundice and infectious hepatitis. JAMA 128, 911 (1945)

94 Pe'cenkov'a I. et al : Prevalence of HB_sAg and anti-HB_s in hospital personnel. J. Hyg. epidemiol microbiol immunol (Praha) 22 (4), 470-476 (1978)

95 Price, A. M.: An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. Proc. Nat. Acid Sci USA 60, 814 (1968)

96 Redeker, A.G.: Viral hepatitis: clinical aspects. A. J. med. Scs. 270, 9-16 (1975)

97 Robinson, W. S.: DNA and DNA polymerase in the core of the Dane particle of hepatitis B. A. J. med. Scs. 270, 151-159 (1975)

98 Sab'au, M., Demter, S.: Prevalence of HB_eAg and anti-HB_e in blood donors with HB_s-antigenemia. Virologie 29 (3), 209-212 (1978)

99 Schleiermann, N. et al.: High risk groups for Hepatitis B infection in a university hospital staff as determined by detection of HB-antigens, antibodies, and Dane particles. Med. Microbiol. Immunol.(Berl.) 166 (1-4), 241-247 (1978)

100 Schoppe, W. D., Kindler, U., Waldorf, E. : HB_sAntigen und Anti-HB_s bei Krankenhauspersonal. Dtsch. med. Wschr. 102 (47), 1712-1715 (1977)

101 Schweitzer, I. L. et al.: e Antigen in HB_sAg-carrier mothers. N. Engl. J. Med. 293, 940 (1975)

102 Seeff, L. B. et al.: VA cooperative study of post-transfusion hepatitis, 1969-1974: Incidence and charactristics of hepatitis an responsible risk factors. A. J. med. Scs. 270, 355-362 (1975)

103 Shikata, T. et al.: Hepatitis B e antigen and infectivity of hepatitis B virus. J. Infect. Dis. 136 (4), 572-576 (1977)

104 Stokes, J. Jr., Neefe, J. R.: Prevention and attenuation of infectious hepatitis by gamma globulin: Preliminary note. JAMA 127, 144 (1945)

105 Stokes, J. Jr. et al.: The carrier state in viral hepatitis. JAMA 154, 1059 (1954)

106 Sugg, U., Frösner, G., Schneider, W., Stunkat, R.: Hepatitis-Häufigkeit nach Transfusion von HB_s-Ag-negativem und Anti-HB_s-positivem Blut. Klin.Wschr. 54, 1133-1136 (1976)

107 Sugg, U., Schnaidt, M., Frösner, G.G., Schneider, W.: Nachweis von HB Ag und Anti-HB_e in der Immundiffusion und Radioimmunmethode. Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und Immunhämatologie Bd. 5, S. 481-485 (1978)

108 Sugg, U.: Voraussetzungen, Optimierung und Ergebnisse einer Elektrophoretischen Schnellmethode zum Nachweis des HB_sAg. Inaugural-Dissertation, Universität Tübingen (1975)

109 Szmuness, W.,: Recent Advantages in the Study of the Epidemiology of Hepatitis B. Am. J. Pathol. 81, 629-650 (1975)

110 Tabor, E., Ziegler, J. L., Gerety, R. J.: Hepatitis B e antigen in the absence of hepatitis B surface antigen. J. Infect. Dis. 141, 281-292 (1980)

111 Takahashi, K. et al.: Failure of antibody to e antigen to precipitate Dane particles containing DNA polymerase activity and hepatitis B core antigen. J. gen.Virol. 38 (3), 431-436 (1978)

112 Thamer, G. et al.: Das e-Antigen. Dtsch. med. Wschr. 101, 1573-1575 (1976)

113 Thamer, G., Gmelin, K., Kommerell, B. : e Antigen: prognostic marker in acute viral hepatitis B? LANCET 2, 577 (1976)

114 Tiku, M. et al.: Hepatitis B e antigen and antibody activity in hepatitis B virus infection J. Pediatr. 91 (4), 540-544 (1977)

115 Trepo, C. et al.: Detection of e antigen by immunofluorescence in cytoplasm of hepatocytes of HB_sAg carriers. LANCET 1, 486 (1976)

116 Ukkonen, P. et al.: Anti-HB_e and subtypes of HB_sAg among asymptomatic HB$_s$Ag carriers. Vox Sang 36 (2), 109-114 (1979)

117 Velasco Rayo, M.: Virushepatitis - neue Daten, neue Probleme. Hepatologie aktuell 18, Falk-Foundation e.V., Freiburg 1978

118 Vyas, G. N., Roberts, I.: Radioimmunassay of Hepatitis B core antigen and antibody with autologous reagents. Vox Sang 33 (6), 369-372 (1976)

LEBENSLAUF

Am 13.8.1956 wurde ich, Rudolf Hinger, als Sohn des Rudolf Hinger und der Margot Hinger, geb. Stahl, in Ludwigsburg geboren.

Im selben Monat verzogen meine Eltern nach Sigmaringendorf; hier besuchte ich von 1963–1967 die Grundschule. 1967 folgte die Aufnahme in das Staatl. Gymnasium in Sigmaringen, wo ich 1975 das Abitur bestand.

Im gleichen Jahr, im Oktober 1975, begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität Ulm. Nach dem Physikum im August 1977 wechselte ich an die Universität Tübingen; hier begann ich im Sommersemester 1978 zusätzlich mit dem Studium der Zahnmedizin.

Im März 1981 bestand ich das zweite Staatsexamen und von Oktober 1981 bis Oktober 1982 folgte das Praktische Jahr in Böblingen.

Das Staatsexamen legte ich am 20.10.1982 in Böblingen ab.

Herrn Professor Dr.Schneider danke ich für die Überlassung des Themas und seine, vor allem während der praktischen Arbeit im Labor,oft in Anspruch genommene Hilfe.
Mein Dank für teilweise intensive Betreuung besonders bei der Abfassung meiner Arbeit gilt auch Herrn Dr.Sugg.